



Universidade Nova de Lisboa
Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Avaliação dos níveis séricos de 25-hidroxivitamina D em doentes portadores de Artrite Reumatóide e sua influência na atividade da doença.

Serum levels of 25-hydroxyvitamin D evaluation in patients with Rheumatoid Arthritis and its influence on disease activity

Flávia Aparecida Ferreira

**PROJETO DE DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
SAÚDE TROPICAL**

JULHO, 2018



Universidade Nova de Lisboa

Instituto de Higiene e Medicina Tropical

Avaliação dos níveis séricos de 25-hidroxivitamina D em doentes portadores de Artrite Reumatóide e sua influência na atividade da doença.

Serum levels of 25-hydroxyvitamin D evaluation in patients with Rheumatoid Arthritis and its influence on disease activity

Autora: Flávia Aparecida Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Filomena Pereira

Coorientador: Prof. Dr. Philip George Glass Andrade

Projeto de dissertação apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em Saúde Tropical

Flávia Aparecida Ferreira

**Avaliação dos níveis séricos de 25-hidroxivitamina D em doentes portadores
de Artrite Reumatóide e sua influência na atividade da doença.**



Dedicatória

Aos meus pais, que fizeram tudo ao seu alcance para permitir que eu buscasse meus sonhos.

Ao Leo, meu parceiro em todos os sonhos, projetos e conquistas, incentivador diário. Pelo amor e paciência. Sua admiração me torna melhor todos os dias.

Aos meus filhos, Matheus e Cecília, que são o maior motivo para eu seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Profa. Dra. Filomena Pereira e Prof. Dr. Philip George Glass Andrade que, somando esforços de Portugal e do Brasil se dispuseram a me apoiar, incentivar, corrigir e ensinar durante esse projeto, minha admiração e eterna gratidão.

À toda equipe da pós-graduação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia- UESB que, com esforço conjunto, tornou possível essa parceria com a Universidade Nova de Lisboa -UNL.

À todos os pacientes que, mesmo no anonimato, tornaram possível a realização desse trabalho, vocês são o motivo de toda pesquisa médica.

À todos os professores portugueses, que se dispuseram a atravessar o Atlântico para nos trazer seus conhecimentos, meu respeito.

Aos colegas do Mestrado, que tornaram a jornada muito mais leve e agradável, estarei sempre na torcida por todos vocês.

RESUMO

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença que afeta cerca de 1% da população mundial, podendo ser grave e deformante, gerando incapacidade e perda de anos de vida produtiva nos doentes em que é diagnosticada. Ainda que já existam várias opções terapêuticas, alguns indivíduos não respondem às medicações disponíveis, o que mantém constante o interesse da comunidade científica em novas opções de tratamento para estes indivíduos. Vários estudos têm associado a vitamina D com a fisiopatologia das doenças autoimunes, inclusivamente com a AR, sugerindo que a deficiência dessa vitamina poderia estar implicada tanto na génese como no agravamento da atividade da doença. Os objetivos principais deste trabalho foram a) analisar os níveis séricos de vitamina D entre doentes com AR atendidos em Vitória da Conquista-Bahia e b) verificar se os níveis de vitamina D influenciam a atividade da AR, usando o DAS 28 como índice. Para este estudo foram selecionados 103 indivíduos portadores de AR de ambos os sexos e com idades compreendidas entre os 18 e os 80 anos, todos em controlo regular, com pelos menos 3 consultas no último ano e com dosagem de vitamina D registada na ficha clínica no período definido para a colheita dos dados. Após a análise estatística verificou-se que 41,7% dos doentes tinham níveis de vitamina D considerados deficientes ou insuficientes e foi encontrada uma correlação estatisticamente significativa entre o DAS28 e a dosagem de vitamina D ($p=0,007$). A vitamina D correlacionou-se numa forma inversamente proporcional com o DAS28 como índice de atividade de doença na AR, o que confirma os resultados descritos em vários estudos anteriores. Esta relação inversa sugere um papel imunomodulador desta vitamina, apesar da ausência de dados de intervenção a apoiar esta premissa. Para esta observação ter lugar seria necessário efetuar outros estudos, englobando doentes que vivem nesta latitude, numa população maior e num período mais prolongado, nos quais se avaliasse a evolução da atividade da AR perante o suplemento alimentar de vitamina D ou uma intervenção farmacológica com a mesma. Neste momento, a necessidade de determinação laboratorial ou o rastreio dos valores de vitamina D para todos os indivíduos com AR e o melhor método laboratorial a ser usado são ainda discutíveis. No entanto, poder-se-á especular se para os grupos de risco esta não seria uma medida que preveniria complicações futuras, em conjunto com as medidas de reforço e suplementação em doses adequadas a cada défice.

Este estudo foi o primeiro a ser executado numa população do nordeste brasileiro com AR no que diz respeito à análise não só dos níveis de vitamina D, mas também da sua relação com a atividade da doença, medida pelo DAS28, pelo que os seus resultados contribuíram para se conhecer as especificidades desta população no que diz respeito aos parâmetros estudados.

Palavras-chave: Artrite Reumatóide, vitamina D, DAS28, quimioluminescência

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a disease that affects about 1% of the world's population, which can be severe and deforming, generating disability and loss of productive life years in patients suffering from it. Although there are already several therapeutic options, some individuals do not respond to the medications available, which maintains constant interest of the scientific community in new treatment options for these individuals. Several studies have associated vitamin D with the pathophysiology of autoimmune diseases, including RA, suggesting that the deficiency of this vitamin could be implied both in the genesis and worsening of the disease activity. The main objectives of this work were a) to analyze the serum levels of vitamin D between patients with RA treated in Vitória da Conquista-Bahia and b) to verify if the levels of vitamin D influence the activity of the RA, using DAS28 as index. For this study, 103 RA carriers of both sexes, aged between 18 and 80 years were selected. They were all in regular control with at least 3 consultations in the last year and with vitamin D dosage recorded in the clinical record in the period defined for data collection. After statistical analysis, it was found that 41.7% of these patients had vitamin D levels considered deficient or insufficient and a statistically significant correlation was found between DAS28 and vitamin D dosage ($p = 0,007$). It was verified that vitamin D correlated in an inversely proportional way with DAS28 as an index of disease activity of the RA, which confirms the results described in several previous studies. This inverse relationship suggests a immunomodulator role of this vitamin, despite the absence of intervention data to support this premise. For this observation to take place it would be necessary to carry out other studies, encompassing patients living in this latitude, in a larger population and in a longer period, in which the evolution of RA activity would be evaluated before the food supplement of vitamin D or a pharmacological intervention with this product. At the moment, the need for laboratory determination or the screening of vitamin D values for all individuals with RA and the best laboratory method to be used are still debatable. However, it could be speculated whether for the risk groups this would be a measure that would prevent future complications, together with the reinforcement and supplementation in appropriate doses for each deficit.

This study was the first to be carried out in a Brazilian northeast population with RA with regard to the analysis not only of the levels of vitamin D, but also of its relation with the activity of the disease, measured by the DAS28. Therefore, its results contributed for a better knowledge of the specificities of this population, with regard to the studied parameters.

Key words: Rheumatoid arthritis, vitamin D, DAS28, chemiluminescence

ÍNDICE

<i>Dedicatória</i> -----	i
AGRADECIMENTOS -----	ii
RESUMO -----	iii
ABSTRACT -----	iv
LISTA DE ABREVIATURAS -----	vii
1-Introdução -----	1
1.1-Artrite Reumatóide -----	1
1.1.1-Epidemiologia e consequências socioeconómicas-----	1
1.1.2-Etiopatogénese-----	3
1.1.3-Diagnóstico-----	5
1.1.4-Avaliação da atividade da doença-----	9
1.2-Vitamina D -----	11
1.2.1-Introdução-----	11
1.2.2-Fisiologia da Vitamina D-----	13
1.2.3-Níveis plasmáticos de Vitamina D-----	16
1.2.4-Administração de Vitamina D-----	17
1.2.5-Funções da Vitamina D (clássicas e não clássicas) -----	19
1.3-Vitamina D e Artrite Reumatóide -----	22
2-Objetivos -----	26
2.1-Objetivo Primário -----	26
2.2-Objetivos Secundários -----	26
3-Materiais e Métodos -----	27
3.1-Amostra -----	27
3.2-Colheita de dados dos registos clínicos -----	28
3.3-Critérios diagnósticos -----	28
3.4-Disease Activity Score – DAS28 -----	28

3.5-Exames laboratoriais	29
3.5.1-Vitamina D	29
3.6-Análise estatística	30
4-Resultados	31
5-Discussão	39
6-Conclusão	52
7-BIBLIOGRAFIA	54

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABAT - abatacepte

ACR – (American College of Rheumatology) Colégio Americano de Reumatologia

Anti-CCP – (anti-cyclic citrullinated peptide antibodies) anticorpos contra peptídeos citrulinados

AINES – anti-inflamatórios não esteroides

AINH – anti-inflamatórios não hormonais

AR – Artrite Reumatóide

CDAI – (clinical disease activity index) Índice de atividade clínica de doença

CID – classificação internacional das doenças

CYP – citocromo P450

D2 - ergocalciferol

D3 – colecalciferol (vitamina D3)

DAI – doenças autoimunes

DAS – (disease activity score) índice de atividade de doença

DAS 28 – (disease activity score 28) índice de atividade de doença baseado em 28 articulações

DBP – (D binding protein) proteína ligante de vitamina D

DMARD's – (disease-modifying anti-rheumatic drugs) Drogas antirreumáticas modificadoras de doença

DMCD – drogas modificadoras do curso da doença

DNA – (deoxyribonucleic acid) ácido desoxirribonucleico

DP – desvio padrão

EBV – (Epstein Barr vírus) vírus de Epstein Barr

EVA – escala visual analógica

EULAR – (European League Against Rheumatism) Liga Europeia contra o Reumatismo

FGF23 – fator de crescimento de fibroblastos 23

FR – fator reumatóide

GLADAR – Grupo Latino-Americano de Artrite Reumatóide

HAS – hipertensão arterial sistêmica

HCQ – hidroxicoroquina

HLA – (Human leucocyte antigen) antígeno leucocitário humano

HPLC – (High performance liquid chromatography) cromatografia líquida de alta definição

IC – insuficiência cardíaca

ICAD – índices compostos de atividade da doença

IFN- γ – interferon gama

IFP – Inter falangiana proximal

IL – interleucina

IMC – índice de massa corporal

LFN - leflunomida

MHC – (major histocompatibility complex) complexo de histocompatibilidade maior

ml - mililitro

MMPs – metaloproteinases

MS – (Mass spectrometry) espectrometria de massa

MTCF – metacarpo falangiana

MTTF – metatarso falangiana

MTX - metotrexato

ng - nanograma

NK – (linfócitos natural killer) células nulas

PAD – proteína de ligação da vitamina D

PCR – Proteína C reativa

PTH – paratormona

RAA - sistema renina-angiotensina-aldosterona

RNA - ácido ribonucleico

RTX- rituximabe

SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia

SDAI – (simplified disease activity index) índice simplificado de atividade de doença

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences

TLR – (Toll-like receptor) receptor do tipo Toll

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

TOCI – tocilizumabe

UI – Unidades Internacionais

UV-B – raios ultravioletas com comprimento de onda de 290-320 nanômetros

VDIR – receptor inibidor de vitamina D

VDR – receptor de vitamina D

VHS – velocidade de hemossedimentação

1,25 (OH) 2D – calcitriol

7-DHC – 7 desidrocolesterol

25 (OH) D3 - calcidiol

1-Introdução

1.1 Artrite Reumatóide

1.1.1 Epidemiologia e consequências socioeconômicas

A AR é uma doença inflamatória multissistêmica do tecido conjuntivo, com alterações predominantes nas estruturas articulares e periarticulares e que tem como alvo principal as membranas sinoviais. A AR é uma das doenças reumáticas mais frequentes, sendo que a sua incidência e prevalência variam de acordo com diferentes regiões geográficas do mundo. Esta doença abrange cerca de 0,5 a 1% da população caucasiana (1), com taxas mais baixas entre descendentes de asiáticos e africanos, com uma incidência média anual nessas regiões entre 0,02% a 0,05% (2). A sua ocorrência pode ser observada em todos os grupos étnicos, existindo no entanto grupos específicos com maior número de casos, como algumas etnias de índios norte-americanos, que apresentam uma prevalência elevada, de cerca de 6% (1). Dados que dizem respeito à América Latina e ao Brasil são mais escassos, podendo a prevalência ser estimada em cerca de 0,4% , um cálculo baseado em estudos efetuados em diferentes países da região e em diferentes zonas do mesmo país (3). Um estudo multicêntrico brasileiro, em amostras populacionais das macrorregiões do país, encontrou uma prevalência de cerca de 1% na população adulta. Embora possa ter início em qualquer idade, a AR é mais frequentemente diagnosticada entre os 30 e 50 anos (4). Na América Latina, estudos mostram que a idade média de início da doença é cerca dos 40 anos (3), 10 anos mais cedo do que na população caucasiana da Europa e dos Estados Unidos. Nos dois anos seguintes ao diagnóstico, grande parte dos doentes que desenvolviam trabalhos manuais interrompe as suas atividades (3). A doença atinge ambos os sexos, embora haja um predomínio do sexo feminino na proporção de 3:1 na Europa e nos Estados Unidos. Na América Latina, essa proporção foi estimada em cerca de 8 mulheres para cada homem (3). Num estudo multicêntrico desenvolvido pelo Grupo Latino-Americano de Artrite Reumatóide (GLADAR), que envolveu 14 países, os autores relataram que 85% dos doentes incluídos eram do sexo feminino, 43% mestiços, 58% de classe socioeconómica baixa ou média baixa e 77% tinham menos de 12 anos de educação

formal (5). A prevalência da doença é 2 a 10 vezes maior entre os familiares de primeiro grau de indivíduos portadores de AR. A existência em membros da mesma família indica o seu caráter hereditário, mas no entanto a herança da AR é poligénica e não segue um padrão mendeliano (6). Esta entidade clínica é considerada uma doença multifatorial, resultado da interação de fatores genéticos e ambientais, como o tabagismo, que contribuem para a sua ocorrência e expressão (2). A AR exerce um impacto significativo sobre os doentes e a sociedade devido à sua morbilidade, mortalidade e custos económicos (2). Uma vez que os indivíduos com esta doença se encontram maioritariamente em idade produtiva e que pode determinar uma limitação importante da capacidade funcional e laboral, os custos indiretos devem ser incorporados nas análises de fármaco-economia (7). No Brasil, assim como em outros países, os custos relacionados com a AR são elevados, sendo os indiretos maiores nos indivíduos com maior incapacidade funcional (8). Os gastos com estes doentes assumem maior impacto nos países de baixa e média renda, onde os recursos financeiros para a saúde são mais limitados. Em muitos casos, nessas regiões existe ainda uma necessidade prioritária de se resolverem os problemas causados por doenças infecciosas, materno-infantis e lesões decorrentes da violência, entre outros. Este quadro impede que nesses países os esforços e recursos públicos para a saúde sejam direcionados para as doenças incapacitantes como a AR (3). Também se observa um aumento da mortalidade quando se comparam os indivíduos afetados com a população geral, havendo uma redução da expectativa de vida de 3 a 10 anos (2), pois além das lesões articulares, a AR constitui um fator de risco independente para mortalidade precoce, especialmente por doenças cardiovasculares (9-11). Por tudo isto se consegue perceber a razão pela qual um diagnóstico atempado e correto e o tratamento adequado da AR se consideram medidas prioritárias em saúde pública (3).

1.1.2 Etiopatogénese

A AR é uma doença de patogénese complexa e multifatorial, com a participação de fatores genéticos, hormonais e ambientais. No período anterior às manifestações clínicas, existe perda da autotolerância e consequente aparecimento de autoimunidade traduzida por ativação linfocitária e produção de autoanticorpos: dá-se um desequilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias e recrutamento articular de macrófagos, neutrófilos, células T, B e “natural killers” (NK), além de ativação de fibroblastos, osteoclastos e condrócitos. Este influxo celular é responsável pela inflamação sinovial crónica, cujos mediadores principais são as interleucinas (IL) 1,17 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), assim como prostaglandinas e metaloproteinases (MMPs) (12). Como consequência deste processo dão-se as alterações histopatológicas com destruição da cartilagem articular e erosão óssea e as alterações clínicas, traduzidas por incapacidade funcional e deformidades articulares. Atualmente, existem estudos que demonstram um papel relevante da predisposição genética na ocorrência da doença, especialmente nos indivíduos seropositivos para fator reumatóide (FR) e anticorpos contra peptídeos citrulinados (Anti CCP) (13). Depois do sexo feminino, o principal predisponente genético é o antígeno leucocitário humano (HLA) DRB1, que contém uma sequência de cinco aminoácidos chamada epítipo compartilhado. A presença dessa sequência de aminoácidos na AR associa-se com a seleção de linfócitos T, apresentação antigénica, alteração da afinidade peptídica, mimica molecular com antígenos microbianos e aceleração da apoptose linfocitária. A presença do epítipo compartilhado HLA-DRB1 confere maior risco de o tabagismo determinar o aparecimento da AR. Além dos genes HLA, existem mais de trinta outros genes não HLA que contribuem para o risco genético de AR, reforçando a anteriormente mencionada herança poligénica da doença. Descobertas recentes têm mostrado que mesmo os genes HLA maternos não herdados são capazes de exercer influência na suscetibilidade à AR. As explicações para esse fenómeno envolvem a migração de células maternas para a corrente sanguínea do feto durante a gestação, que induziriam uma alteração nas células T da criança, resultando em

indução de tolerância pelas células T e B (14). A epigenética define variações das expressões fenotípicas dos genes devido a modificações no DNA (ácido desoxirribonucleico) diferentes daquelas que causam alteração na sua sequência. Mecanismos diferentes da epigenética, como metilação do DNA e acetilação e desacetilação de histonas, são descritos na AR, cujos resultados incluem aumento ou diminuição da transcrição genética. Neste contexto, tem sido esclarecido o papel dos fibroblastos sinoviócitos, importantes no processo de destruição da cartilagem articular, que por alterações epigenéticas (metilação do DNA) se tornam resistentes à apoptose (15). De forma geral, postula-se que, em indivíduos geneticamente predispostos, haja rotura da homeostasia imunológica por fatores externos que levam à perda de auto tolerância. De entre os fatores de risco associados à doença e tal como anteriormente referido, deve ressaltar-se o tabagismo, que é um fator de risco que se pode prevenir. Este fator é importante para o aparecimento da doença e está relacionado com a sua gravidade, presença de manifestações extra articulares e presença do FR. A sua ação deve-se à indução do processo de citrulinização dos resíduos de arginina em citrulina. Este “novo” aminoácido origina uma reação contra proteínas citrulinadas que pode ser identificada pela pesquisa de anticorpos contra estas proteínas (Anti CCP), os quais estão presentes anos antes do início dos sintomas de AR, evidenciando que o fenómeno da autoimunidade precede a doença clínica (16). Bactérias e vírus também têm sido implicados na etiopatogénese da AR, como micoplasmas, micobactérias, bactérias da microbiota intestinal, parvovírus e vírus Epstein-Barr (EBV). A infeção por estes agentes pode eventualmente originar formação de imunocomplexos, determinando o aparecimento do FR. O mecanismo da localização articular que se segue à perda de tolerância e à autoimunidade sistémica não está esclarecido, uma vez que apesar de inúmeros estudos, nunca se conseguiu relacionar nenhum antigénio com a presença desta doença (12). Tanto o sistema imune adquirido como o inato estão envolvidos na patogénese da AR. As células do sistema inato são ativadas via receptores de reconhecimento, como os receptores Toll (TLR), o que leva à ativação de macrófagos, que por sua vez levam à produção de TNF- α e ILs 1,6,12,15,18 e 23, à apresentação de antígenos e à fagocitose.

Outro mecanismo envolvido na AR é a presença de linfócitos T nas articulações, que são ativados pelo complexo de histocompatibilidade maior (MHC) de classe II, ativando células T CD4+, que continuam a responder a antígenos próprios, perpetuando o processo inflamatório, mesmo sem a persistência do antígeno. O TNF- α desempenha um papel importante ao estimular os fibroblastos da membrana sinovial para a síntese da enzima colagenase e à reabsorção óssea, que culminam nas erosões ósseas. Todos estes fatores associados levam à inflamação da articulação sinovial (sinovite), com formação de derrame no espaço articular e hiperplasia da membrana sinovial, que caracteriza a fase crônica da doença. Nesta, ocorre a formação de um tecido de granulação invasivo, que produz enzimas lesivas à cartilagem articular, o qual cobre a cartilagem e o osso subcondral (pannus). O resultado final é a anquilose fibrosa ou óssea com limitação da função articular (12, 13).

1.1.3 Diagnóstico

O diagnóstico da AR é praticamente clínico, não existindo exames complementares, sejam laboratoriais, de imagem ou histopatológicos, que isoladamente possam confirmá-lo. Embora haja uma grande variedade de manifestações sistêmicas, a principal característica da AR estabelecida é a sinovite inflamatória persistente, geralmente envolvendo as articulações periféricas com uma distribuição simétrica. O potencial da inflamação sinovial para causar alterações prejudiciais na cartilagem e erosões no osso com subsequentes alterações na integridade articular, constituem as características principais da doença. Apesar do seu potencial destrutivo, o curso da AR pode ser muito variável. Alguns doentes podem manifestar doença oligoarticular de curta duração e com um mínimo de lesões articulares, mas a maioria terá uma evolução com poliartrite progressiva e acentuada incapacidade funcional. No entanto, o diagnóstico de AR pode-se tornar difícil no início da doença, quando apenas existem sintomas constitucionais ou intermitentes, uma vez que também podem estar presentes artralguas ou artrite com uma distribuição assimétrica. Um período de observação e vigilância pode ser necessário antes

do diagnóstico definitivo ser estabelecido. Este depende predominantemente das características clínicas, bem como da exclusão de outras doenças que cursam com processos inflamatórios articulares. Em 1987, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) desenvolveu uma revisão dos critérios para a classificação da AR (Tabela 1).

Tabela 1 – Critérios do ACR para classificação da AR (1987)

- 1- Rigidez matinal: rigidez articular matinal de 1 hora de duração, no mínimo.
- 2- Artrite de três ou mais grupos articulares: edema ou derrame articular envolvendo simultaneamente e no mínimo 3 grupos articulares, observada por médico. Os 14 grupos possíveis são: interfalangianas proximais (IFPs), metacarpofalangianas (MTCFs), punhos, cotovelos, joelhos, tornozelos e metatarsofalangianas (MTTFs).
- 3- Artrite de articulação das mãos: artrite de articulação dos punhos, MTCFs ou IFPs.
- 4- Artrite simétrica: envolvimento bilateral, simultâneo, dos grupos articulares citados no item dois.
- 5- Nódulos reumatóides: nódulos subcutâneos sobre proeminências ósseas, superfícies extensoras ou regiões justa-articulares, observados por médico.
- 6- Fator reumatóide: fator reumatóide sérico detectado por qualquer método cujo resultado seja positivo em menos de 5% dos indivíduos normais.
- 7 -Alterações radiográficas: erosões ou osteopenia justa-articular observadas em radiografias das mãos e punhos em incidência pósterio-anterior.

Para o diagnóstico são necessários um mínimo 4 dos 7 critérios.

Critérios de 1 a 4 devem estar presentes durante um mínimo de 6 semanas.

Um indivíduo é considerado como tendo AR se apresentar pelo menos 4 dos 7 critérios (17). Na doença de longa duração, estes critérios demonstraram uma sensibilidade de 91-94% e uma especificidade de 85%. Embora estes critérios tenham sido desenvolvidos como uma forma de classificar a doença para fins de investigação, foram igualmente úteis no estabelecimento do diagnóstico durante muito tempo. No entanto, estes critérios incluem características menos frequentes na AR de início recente, como alterações radiográficas e nódulos, sendo considerados menos adequados para a identificação de indivíduos com AR inicial (sensibilidade de 40 a 90% e especificidade de 59 a 90%). Ainda que a questão seja controversa, a AR de início recente pode ser definida como a fase inicial, uma janela de oportunidade terapêutica, quando o estabelecimento de terapia adequada poderá modificar a evolução da doença, sendo o prognóstico melhor do que em fases mais tardias da mesma (18). O tempo de duração dos sintomas para a AR ser definida como inicial varia amplamente na literatura especializada. Historicamente, considerava-se inicial a AR com duração inferior a cinco anos (19). No contexto de janela de oportunidade, no entanto, fez-se necessária a redução desse período e, no princípio da década de 1990, passou-se a considerar AR inicial a que apresenta duração de sintomas inferior a 24 meses com grande ênfase nos primeiros 12 meses de manifestações clínicas. Atualmente, pensa-se que se deve avaliar um doente com sintomas articulares na primeira oportunidade possível e a definição da fase inicial da AR compreende as primeiras semanas ou meses de sintomas (em geral, menos de 12 meses), destacando-se como período crítico as primeiras 12 semanas de manifestações como a AR muito inicial ou muito precoce (VERA - do inglês *very early rheumatoid arthritis*). Os doentes com mais de 12 semanas e menos de 12 meses de sintomas articulares são incluídos na chamada AR inicial tardia (LERA - do inglês *late early rheumatoid arthritis*) (20).

Aliados a esta observação e à descoberta dos novos anticorpos anti CCP, em 2010, o ACR e a Liga Europeia contra o Reumatismo (EULAR) desenvolveram em conjunto novos critérios de classificação (Tabela 2) com o objetivo de aumentar, principalmente, a sensibilidade do diagnóstico em fases mais precoces da doença.

Tabela 2 – Critérios do ACR/EULAR para classificação da AR (2010)

DOMÍNIOS	PONTOS
Articulações atingidas	
1 grande articulação	0
2-10 articulações grandes	1
1-3 articulações pequenas (grandes não contadas)	2
4-10 articulações pequenas (grandes não contadas)	3
>10 articulações, pelo menos 1 pequena	5
Serologia	
FR e anti-CCP negativos	0
FR e/ou anti-CCP em títulos baixos (< 3 vezes o limite superior)	2
FR e/ou anti-CCP em títulos altos (> 3 vezes o limite superior)	3
Duração da sinovite	
< 6 semanas	0
≥ 6 semanas	1
Provas de atividade inflamatória	
VHS e PCR normais	0
VHS e/ou PCR elevados	1

Os critérios baseiam-se num sistema de pontuação por score de soma direta. Uma pontuação ≥ 6 é necessária para a classificação definitiva de um doente com AR. Os critérios de 2010 só devem ser aplicados aos indivíduos que apresentem pelo menos uma articulação com sinovite clínica que não seja justificada por outra doença, sendo que podem ser preenchidos de forma prospetiva ou retrospectiva (21). Não há recomendação para que se substituam os critérios de 1987 pelos de 2010, podendo ambos ser utilizados ou um dos dois para fins de classificação, considerando que nenhum deles é critério diagnóstico. O diagnóstico de AR é complexo e inclui diversos

aspectos que dificilmente podem ser resumidos na forma de scores. É claro que também será importante uma avaliação laboratorial, de modo a ter uma abordagem diagnóstica mais correta. Estes testes incluem um hemograma completo, avaliação metabólica e marcadores mais específicos de inflamação como a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C reativa (PCR). Em adição a estes, também o FR e os anticorpos anti-CCP podem ser avaliados, mas quando existe apenas um teste positivo para FR, anti-CCP, VHS ou PCR elevados, especialmente num indivíduo idoso, sem sinais de artrite, não deve ser utilizado como prova propriamente dita de AR. Os dados radiológicos (osteopenia periarticular, edema de partes moles, erosões e quistos subcondrais, luxações e desvios articulares, anquilose óssea) podem fornecer também informações importantes acerca do diagnóstico da doença, mas são achados numa fase mais tardia.

1.1.4 Avaliação da atividade da doença

Para otimizar o tratamento da AR, é necessária uma avaliação periódica da resposta clínica e laboratorial do esquema terapêutico instituído. Em virtude da natureza multifacetada da doença, nenhum parâmetro clínico ou laboratorial, isoladamente, é capaz de traduzir, de forma satisfatória, o nível da atividade inflamatória num determinado momento (22). Para minimizar o problema, foram desenvolvidos e validados os índices compostos de atividade da doença (ICAD), que empregam vários parâmetros (Tabela 3).

Tabela 3 – Índices compostos de atividade de doença com os seus valores diferentes

Índice	Categoria de atividade de doença	Definição original	Nova definição
DAS	Remissão	<1,6	--
	Baixa	$\leq 2,4$	--
	Moderada	$\leq 3,7$	--
	Alta	$> 3,7$	--
DAS 28	Remissão	<2,6	<2,4
	Baixa	$\leq 3,2$	$\leq 3,6$
	Moderada	$\leq 5,1$	$\leq 5,5$
	Alta	$> 5,1$	$> 5,5$
SDAI	Remissão	<5	<3
	Baixa	≤ 20	≤ 11
	Moderada	≤ 20	≤ 26
	Alta	> 40	> 26
CDAI	Remissão	<2,6	--
	Baixa	≤ 10	--
	Moderada	≤ 22	--
	Alta	> 22	--

Estes são instrumentos de grande utilidade para a medida da atividade da AR numa escala contínua e são designados como: índice de atividade de doença (DAS - *disease activity score*), índice de atividade de doença baseado em 28 articulações (DAS 28), índice simplificado de atividade de doença (SDAI - *simplified disease activity index*) e índice clínico de atividade de doença (CDAI – *clinical disease activity index*) (23). A correlação entre os ICADs é boa e qualquer um pode ser utilizado isoladamente (22, 23).

O score DAS 28 é um dos índices que demonstrou uma ótima correlação (0,97) com a atividade de doença quando comparado com o DAS original e, naturalmente, é muito mais prático, tanto para avaliar essa atividade num determinado tempo de evolução da AR, como para avaliar se houve resposta clínica boa ou moderada ao tratamento instituído (23). Por isso, tem tido grande aplicação em estudos clínicos de AR e também na monitorização de doentes individualmente.

Para a determinação do DAS 28 é necessária a quantificação da AGS (Avaliação Global de Saúde) que é obtida por uma EVA (Escala Visual Analógica) de 0 a 100, sendo também determinada a VHS. O cálculo do DAS28, baseia-se na seguinte fórmula:

$$0,56 \times \sqrt{\text{NAD28}} + 0,28 \times \sqrt{\text{NAE}} + 0,70 \times \ln \text{VHS} + 0,014 \times \text{AGS}$$

Uma calculadora própria para facilitar este cálculo pode ser usada, facilitando a determinação de resultados, que são fidedignos. <https://www.das-score.nl/das28/DAScalculators>

1.2 Vitamina D

1.2.1 Introdução

A vitamina D, também conhecida como calciferol, além de ser considerada uma vitamina por ser um micronutriente essencial para o funcionamento adequado do organismo, passou também a ser vista como uma pró-hormona nas últimas décadas, porque é sintetizada maioritariamente no organismo após exposição solar e atua em células específicas que expressam o seu recetor (recetor de vitamina D - VDR). O calciferol apresenta-se sob duas isoformas, D2 (ergocalciferol) e D3 (colecalciferol). O ergocalciferol é obtido na alimentação pela ingestão de peixes como salmão, sardinha, cavala, atum, além de gema de ovo e de cogumelos. A tabela 4 lista os principais alimentos fontes de vitamina D.

Tabela 4 -Fontes alimentares de vitamina D

Alimento	Porção	Conteúdo de vitamina D por porção
Salmão selvagem	100 g	~ 600-1.000 UI de vitamina D ₃
Salmão de criação	100 g	~ 100-250 UI de vitamina D ₃
Sardinha em conserva	100 g	~ 300 UI de vitamina D ₃
Cavala em conserva	100 g	~ 250 UI de vitamina D ₃
Atum em conserva	100 g	~ 230 UI de vitamina D ₃
Óleo de fígado de bacalhau	5 mL	~ 400-1.000 UI de vitamina D ₃
Gema de ovo	1 unidade	~ 20 UI de vitamina D ₃
Cogumelos frescos	100 g	~ 100 UI de vitamina D ₂
Cogumelos secos ao sol	100 g	~ 1.600 UI de vitamina D ₂

Adaptado de Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007 (24)

Em alguns alimentos, a vitamina D é adicionada de forma voluntária, sobretudo nos Estados Unidos da América (25). Já o colecalciferol, responsável pela produção da maior parte da vitamina D ativa no organismo, é sintetizado na pele a partir da radiação ultravioleta B (UV-B) (26). Ambas as isoformas requerem duas hidroxilações a fim de se transformarem no metabólito ativo, o calcitriol (1,25(OH)₂D).

O papel da vitamina D até hoje melhor elucidado é o que se refere à sua atuação no metabolismo ósseo, embora vários estudos apontem a sua relação com diferentes distúrbios (26, 27). A presença de seu recetor em diversos tecidos chama a atenção para a atuação da vitamina D sistemicamente, contribuindo para a homeostase do organismo. A sua baixa concentração sérica está associada a diversas condições clínicas, como diabetes mellitus, osteoporose, insuficiência cardíaca e artrite reumatóide (27), pelo que se tem dado muita atenção à insuficiência e à deficiência desta vitamina. Nos últimos anos, constatou-se que a hipovitaminose D é uma pandemia e um problema desconhecido pela população em geral (28, 29).

1.2.2 Fisiologia da Vitamina D

A radiação ultravioleta com comprimento de onda entre 290-320 nanômetros (UV-B), ao atingir a pele, promove a conversão de 7-desidrocolesterol (7-DHC) em pré-vitamina D₃. Este componente, por sua vez, converte-se, com perda de calor, em vitamina D₃ (D₃). O local destes processos é a pele, mais pronunciadamente nas camadas basal e espinhosa da epiderme, onde existe uma maior concentração de 7-DHC e uma menor distância para a molécula de D₃ percorrer até atingir a circulação sanguínea local (27, 30).

Uma vez na circulação próxima às camadas mais profundas da epiderme, a molécula de D₃ liga-se à proteína de ligação da vitamina D (PAD), uma alfa globulina, e é transportada até ao fígado, onde é metabolizada. No fígado ocorre a primeira hidroxilação da molécula de D₃, formando a 25-hidroxivitamina D₃ ou calcidiol (25-OHD₃), sendo a reação catalizada pela enzima 25-hidroxilase, da superfamília da citocromo P450 (CYP), CYP27A1 e CYP2R1 (27, 30). A molécula de 25-OHD₃ atinge a circulação sanguínea e liga-se amplamente a proteínas plasmáticas – PAD (na proporção de 80 a 90%) e à albumina (na proporção de 10 a 20%). Devido a essa distribuição intimamente relacionada com as proteínas plasmáticas, a semi vida da 25-OHD₃ é longa, de duas a três semanas (31).

A 25-OHD₃ é o metabólito de D₃ mais abundante no organismo, mas não é o metabólito ativo usual. A 25-hidroxivitamina D₃, quando atinge certos tecidos e células, é metabolizada pela enzima mitocondrial 1 α -hidroxilase, presente na CYP27B1, a qual é preponderantemente ativa nos rins (27, 30-32). Essa metabolização promove a segunda hidroxilação, formando o metabólito ativo 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D ou calcitriol), que tem uma semi vida, de quatro a seis horas (31). “Apesar do rim ser a maior fonte de 1,25(OH)₂D circulante, outros tecidos também expressam esta enzima [...]. Exemplos incluem as células epiteliais da pele, dos pulmões, da mama, do intestino e da próstata; glândulas endócrinas como a paratiroide, as ilhotas pancreáticas, tiroide, testículos, ovários e placenta; células do sistema imune, incluindo macrófagos, linfócitos T e B e células dendríticas; osteoblastos e condrócitos, além de vários tumores derivados dessas células” (33, 34).

Diferentemente do que ocorre com a 25-hidroxilase hepática, a expressão da enzima 1-alfa-hidroxilase renal é fortemente regulada por 3 condições: a paratormona (PTH), o FGF23 (fator de crescimento de fibroblastos 23) e a produção do calcitriol local (33, 35). Em situação de hipocalcemia, a produção e secreção de PTH aumentam em cerca de 30 minutos (35). A PTH, por sua vez, aumenta a expressão da CYP27B1, favorecendo a formação de calcitriol pelos rins e elevando o nível sérico desse metabólito, visando aumentar a absorção intestinal do cálcio proveniente da alimentação e reverter a hipocalcemia (33, 35). Níveis elevados de cálcio suprimem a CYP27B1 primariamente pela infra-regulação da PTH, mas também têm um efeito direto sobre a célula renal. A alta concentração de fosfato estimula a FGF23 e, assim, suprime a CYP27B1, além de também atuar diretamente sobre a CYP renal (33, 36, 37).

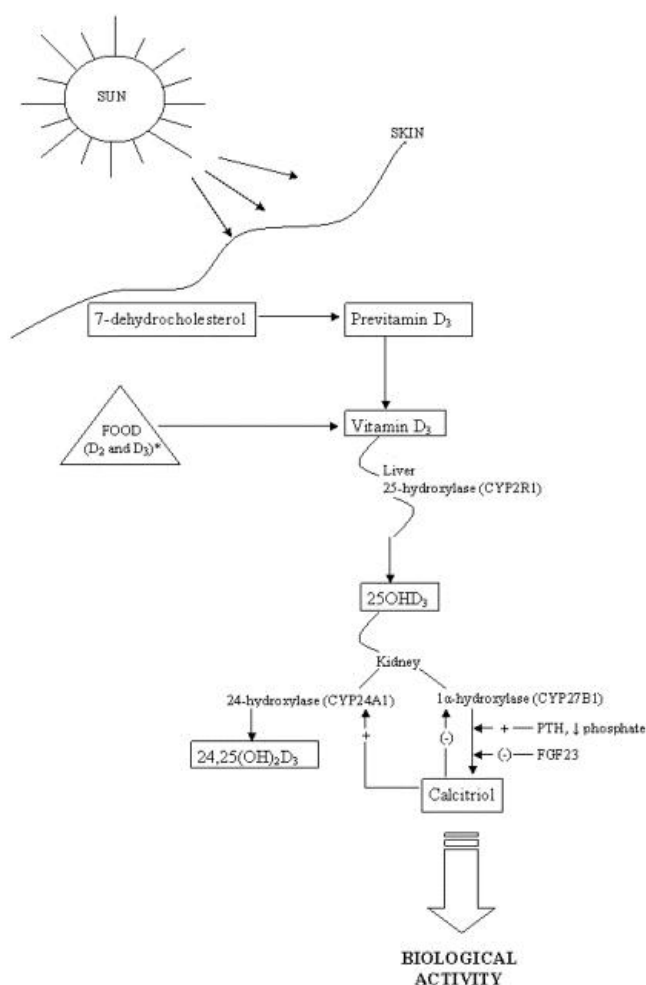
Os níveis séricos de 1,25 (OH)₂D, quando elevados, atuam regulando a sua própria produção; limitam a atividade da CYP27B1 por inibição da PTH, elevam a produção de FGF23 e podem ainda induzir a enzima catalítica CYP24A1. No entanto, a 1,25(OH)₂D também inibe diretamente a expressão de CYP27B1 no rim através de um mecanismo complexo envolvendo VDR e um recetor inibitório de vitamina D (VDIR), que direciona histonas desacetilases e DNA metil transferases ao promotor da CYP27B1, inibindo a sua transcrição (30, 38).

A nível extra-renal, ocorre regulação da produção de 1,25(OH)₂D em macrófagos e queratinócitos. Em relação aos macrófagos, existem evidências de que a CYP27B1 neles presente é estimulada por citocinas (fator de necrose tumoral, interleucinas 1 e 2, interferon) e que pode ser inibida pelo FGF23. Já no caso dos queratinócitos, há estimulação da CYP27B1 pelo fator de necrose tumoral e pelo interferon, além do efeito estimulatório da PTH e inibição promovida pelo nível elevado de 1,25(OH)₂D, local que promove uma retroalimentação negativa ao estimular a CYP24A1, enzima que cataboliza o metabólito ativo (33).

A CYP24A1 catalisa a inativação do calcitriol por ação das 23-hidroxilase e 24-hidroxilase. Tanto o calcitriol como o calcidiol são hidroxilados por estas enzimas, embora o calcitriol seja hidroxilado em maiores proporções (33). A regulação da CYP24A1 dá-se a partir dos níveis de 1,25(OH)₂D; quando os níveis séricos estão

elevados, a CYP24A1 é estimulada para promover a inativação do metabólito e, assim, proteger o organismo da toxicidade do mesmo (39). Por mecanismos ainda não descritos, o FGF23 também estimula a CYP24A1. Uma visão geral do metabolismo da vitamina D e de sua regulação está ilustrada na Figura 1.

FIGURA 1 – Síntese, ingestão e ativação da vitamina D



Fonte: adaptado de Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D.

Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.

1.2.3. Níveis plasmáticos de Vitamina D

A Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) recomenda que a avaliação do “status” da vitamina D deve ser feita a partir dos níveis séricos do calcidiol (25(OH)D), pois este metabólito tem uma semi vida mais longa do que o calcitriol (1,25(OH)₂D), apesar de ambas as frações poderem ser medidas. A aferição sérica inclui as duas isoformas do calcidiol, D2 e D3 (40). Com esta avaliação, os indivíduos podem ser classificados em: deficientes, quando o nível sérico está abaixo de 20 ng/mL (50 nmol/L); insuficientes, quando o nível sérico está entre 20 e 29 ng/mL (50 a 74 nmol/L); ou suficientes em vitamina D, quando o nível sérico está acima de 30 ng/mL (75 nmol/L) (40, 41). Sendo assim, muitos autores consideram concentrações menores que 30 ng/mL como hipovitaminose D (40).

As concentrações de vitamina D devem estar acima de 30 ng/mL e são as que se preconizam para populações de risco, como gestantes, lactentes, indivíduos com síndromes de má absorção, doentes acamados, portadores de osteoporose, obesos, os que apresentam um quadro de raquitismo ou de osteomalácia, insuficiência renal ou hepática, hiperparatireoidismo, indivíduos em regime de fotoproteção e indivíduos em uso contínuo de trajes religiosos (40).

Existem diversos métodos para medir os níveis plasmáticos do calcidiol, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) associada à espectrometria de massa (MS) que são consideradas as técnicas padrão e que conseguem diferenciar as isoformas D2 e D3. No entanto, este método tem custos elevados e é mais trabalhoso do que os outros métodos, o que limita o seu uso na prática clínica de rotina. O método mais prático e de menor custo para uso de rotina é o imunoensaio automatizado, que utiliza anticorpos seletivos para as isoformas do calcidiol. No entanto, esta metodologia apresenta limitações na sua eficácia, principalmente pela ocorrência de ligações cruzadas com outras moléculas, como o 3-epímero do calcidiol – que pode corresponder até a 5% da medida total – e a 24,25(OH)₂D – responsável por até 20% da medida total. Por este

motivo, o clínico deve estar atento a estas variações, a fim de evitar erros de classificação diagnóstica (40).

Independentemente do método utilizado para se medir os níveis de vitamina D, é importante que haja uma definição precisa da faixa de normalidade para um diagnóstico mais correto. Vários fatores devem ser considerados ao avaliar a concentração sérica de calcidiol, como fatores ambientais e do estilo de vida, sobretudo a exposição solar, e condições genéticas como os polimorfismos do gene da CYP27B1 e as alterações na DBP (proteína ligante de vitamina D)(40).

1.2.4. Administração de Vitamina D

A SBEM, seguindo a linha da Endocrine Society não recomenda a suplementação de vitamina D para toda a população, mas sim para os indivíduos com risco para deficiência dessa vitamina (40, 41). Deve preconizar-se a utilização do colecalciferol (ou vitamina D3) sobre o ergocalciferol (ou vitamina D2), pois existem evidências de que a semi vida do colecalciferol é maior e com a sua utilização conseguem-se concentrações séricas mais estáveis, além de que certos métodos laboratoriais reconhecem apenas a presença de vitamina D3 no sangue.

As doses de tratamento dependem do grau da deficiência e da meta que se deseja atingir em cada doente de forma individualizada. Quando a concentração sérica está muito abaixo do desejado (abaixo de 20 ng/mL), torna-se necessário prescrever o esquema de ataque. O esquema de ataque mais utilizado atualmente é o de 50.000 UI/semana, ou 7.000 UI por dia de vitamina D, durante 6 a 8 semanas. No entanto, caso a meta não seja atingida ao fim do ciclo, pode estender-se o tratamento, sendo, por isso, necessária a dosagem sérica no fim de cada ciclo.

No fim do ciclo da dose de ataque, se a meta for atingida, deve-se instituir o esquema da dose de manutenção. A Endocrine Society aperfeiçoou as doses sugeridas no esquema de manutenção do Institute of Medicine e o resultado final adaptado é apresentado na Tabela 5. Apesar dos valores sugeridos, pode aumentar-se a dose de manutenção em indivíduos que não apresentem bom controle com as doses propostas. Relato de que doses de até

10.000 UI/dia durante 5 meses não induziram sinais de toxicidade (hipercalcemia e hipercalciúria) existem. O calcitriol (1,25 OH₂ D) não é utilizado como suplementação, porque atua sistemicamente em vários sítios e tem uma alta taxa de toxicidade.

Existem situações na suplementação que requerem atenção especial. Na doença renal crónica, sempre que os níveis forem menores que 30 ng/mL, recomenda-se a avaliação do calcidiol sérico no fim de cada ciclo de doses de ataque até que a meta seja atingida, após o que se deve avaliar a sua manutenção a cada 6 meses. Na osteoporose, recomenda-se valores séricos acima de 30 ng/mL a fim de evitar o hiperparatiroidismo secundário e o aumento da reabsorção óssea, pelo que são necessárias doses diárias entre 1.000 e 2.000 UI. Os indivíduos obesos apresentam níveis mais baixos de vitamina D e são considerados população de risco para deficiência, principalmente se pretendem submeter-se a cirurgia bariátrica, situação que agrava muito mais esse quadro. As gestantes com risco para deficiência devem receber suplementação, pois esta traz benefícios para a mãe (Evidência B) e para o recém-nascido (Evidência A), sendo que as doses recomendadas estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5 – Doses de vitamina D recomendadas para doentes com risco de deficiência, segundo a Endocrine Society, Estados Unidos da América, 2011.

Idade	Necessidade diária	Dose máxima tolerada
0 a 12 meses	400-1.000 UI	2.000 UI
1 a 18 anos	600-1.000 UI	4.000 UI
19 a mais de 70 anos	1.500-2.000 UI	10.000 UI
Grávidas de 14 a 18 anos	600-1.000 UI	4.000 UI
Grávidas de 19 a 50 anos	1.500-2.000 UI	10.000 UI
Lactantes de 14 a 18 anos	600-1.000 UI	4.000 UI
Lactantes de 19 a 50 anos	1.500-2.000 UI	10.000 UI

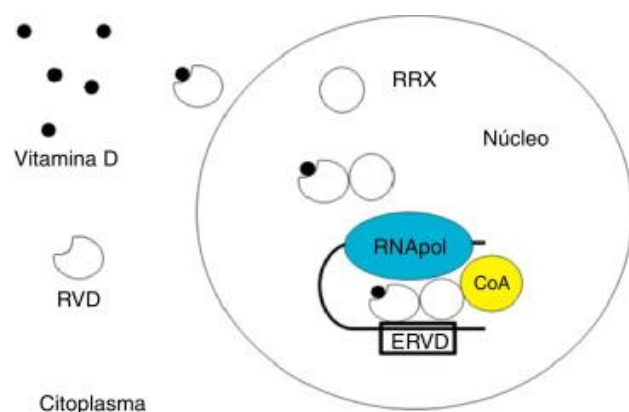
Fonte: Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline, 2011(41).

A SBEM recomenda o uso de análogos ativos da vitamina D, como o calcitriol (que é a pior alternativa, porque é inespecífico e atua em vários sítios do organismo tendo maior probabilidade de provocar efeitos adversos), paricalcitol, maxacalcitol, doxercalciferol e eldecalcitol, com o fim de suprimir as concentrações de PTH em indivíduos com hiperparatireoidismo secundário e insuficiência renal crônica. A dose varia de acordo com o estágio de IRC e do nível de PTH sérica.

1.2.5. Funções da Vitamina D (clássicas e não clássicas)

As ações do calcitriol, o metabólito ativo da vitamina D, dependem da ligação dessa molécula ao recetor VDR citoplasmático das mais diversas células. O complexo calcitriol-VDR é então internalizado para o núcleo celular, onde forma um novo complexo, heterodimérico, com o recetor do ácido retinoico. Este complexo, por sua vez, liga-se a sequências do DNA que respondem à ação da vitamina D, promovendo expressão génica específica em cada tipo celular (30, 33). Como ilustrado na Imagem 2.

FIGURA 2 – Mecanismo de ação da vitamina D



Fonte: adaptado de Revista brasileira de reumatologia, 2015. Osteoporose na artrite reumatoide: papel do sistema vitamina D/HPT. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbr/v55n3/0482-5004-rbr-55-03-0256.pdf>. Acesso em abril de 2017

Já que o VDR é expresso em múltiplas células no organismo, a ação do calcitriol leva a vários efeitos biológicos como inibição da proliferação celular e indução da diferenciação, inibição da angiogénese e estimulação da produção de insulina, entre outros (41).

O papel da vitamina D na homeostasia mineral e óssea é o mais conhecido e difundido. Esta vitamina atua localmente no duodeno promovendo maior absorção de cálcio pelo intestino a partir da síntese proteica de elementos como a calbindina-D9k (CaBP-9k) e o canal apical epitelial TRPV6 (40). O calcitriol, quando em concentração elevada, modula a ação da PTH e por esse motivo está relacionado com uma massa óssea melhor. A hipovitaminose D pode levar a hiperparatiroidismo secundário, com elevação nos níveis da PTH, devido à absorção diminuída de cálcio e fósforo no intestino (42).

A expressão de VDR existe no músculo estriado esquelético e, clinicamente, doentes com hipovitaminose D apresentam redução na força muscular e miopatia (40) .

A Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia recomenda que “apesar de estudos observacionais mostrarem associação entre baixas concentrações de vitamina D e alterações em diversos sistemas extra esqueléticos, no momento não é possível comprovar uma relação causa-efeito (Evidência B)” (40). A partir desta informação, podemos inferir que as associações estudadas parecem existir, mas que ainda são pouco elucidadas na literatura. Há ainda muito para se pesquisar no que diz respeito à atuação da vitamina D nos outros sistemas que não o musculoesquelético.

Estudos observacionais apontam a hipovitaminose D como fator de risco cardiovascular (40). Está muito relacionada com a insuficiência cardíaca (IC) devido a hipocalcémia, que acarreta dificuldade contrátil do músculo cardíaco. Um estudo realizado na Alemanha por Pilz et al. (43), entre 1997 e 2000, com 3299 participantes com hipovitaminose D e IC, demonstrou que pessoas com concentração sérica de calcidiol inferior a 17,3 ng/ml apresentaram função miocárdica mais precária, aumento da mortalidade por IC e nos que apresentavam deficiência grave (<10 ng/mL) havia um risco elevado de AVC e morte súbita (40, 42).

A vitamina D tem uma ação no sistema imune, tanto inato como adquirido, e tem sido associada a diversas doenças autoimunes, como diabetes mellitus tipo 1 (44), tiroidite de Hashimoto (45), síndrome de Sjögren (46), entre outras. A ação da vitamina D depende da presença do VDR intracelular e também da presença de enzimas metabolizadoras. Esta associação num único tecido possibilita a formação da forma ativa da vitamina D localmente, promovendo ações autócrinas e parácrinas. Em vários componentes de barreira do organismo, como a pele, a mucosa intestinal, a placenta e os alvéolos existe expressão de VDR e das enzimas metabolizadoras. A ação da vitamina D nesses locais está relacionada com a estabilização de membrana, pelo que se considera que a o calcitriol tem ação na primeira linha de defesa do organismo (44).

Em 2006, Liu P. T. et al. (50), demonstraram que a ativação dos receptores toll-like (TLRs) em macrófagos humanos supra-regula a expressão de VDR e da enzima alfa-1-hidroxilase, levando à indução da catelicidina, um peptídeo antimicrobiano potente, responsável pela morte da *Mycobacterium tuberculosis*. A vitamina D tem ação antimicrobiana também na lepra e em diversas outras infecções bacterianas (31). Outro mecanismo da imunidade inata que é estimulado pela vitamina D é a indução de espécies reativas de oxigénio e a ativação da autofagia antibacteriana (47). O calcitriol também regula os níveis de polimorfonucleares séricos (48).

Em relação à ação da vitamina D na resposta imune adaptativa, há uma supressão desta resposta a partir da supressão de Th1, responsável pela libertação de citocinas inflamatórias como interleucina 2 (IL-2) e interferon gama (IFN γ). A vitamina D também inibe a diferenciação das células dendríticas, resultando na supressão da IL-12 pró-inflamatória. Por outro lado, o calcitriol estimula as citocinas associadas a Th2, principalmente a citocina anti-inflamatória IL-10 e as células T reguladoras (47). A 1,25(OH) $_2$ D também tem ação na maturação das células T a partir da atuação direta no VDR, visando aumentar a sensibilidade das células T aos estímulos antigénicos (43).

Indivíduos com hipovitaminose D experimentam mais quadros infecciosos, inflamatórios e alterações degenerativas do que indivíduos com níveis ótimos dessa vitamina. A deficiência de vitamina D pode ser considerada fator de risco para sépsis e alterações

inflamatórias. Nesse sentido, o calcitriol tem papel protetor do organismo, sendo a suplementação de extrema importância em indivíduos que sofrem de hipovitaminose (48).

Baixas concentrações locais de calcitriol favorecem a carcinogênese tecidual (40). A vitamina D suprime a expressão de certos oncogenes e, por isso, dificulta a formação tumoral. Tem diversos efeitos antiproliferativos, aumentando a expressão do fator de crescimento “insulin-like”, inibindo a sinalização mitogénica de fatores de crescimento e induzindo a apoptose ao suprimir genes anti-apoptóticos. O calcitriol estimula a diferenciação e inibe a invasão e as metástases a partir do estímulo à maior expressão de E-caderina, um gene que infra-regula a capacidade metastática tumoral (44).

1.3 Vitamina D e Artrite Reumatóide

A AR é uma doença autoimune, de etiologia desconhecida, que envolve a inflamação das membranas sinoviais das articulações periféricas, podendo abranger estruturas extra articulares. Mundialmente, a sua prevalência varia de 0,4 a 1,3% (49), atinge mais mulheres e é mais comum na faixa dos 30 a 50 anos (34). O envolvimento simétrico de pequenas e grandes articulações é característico da AR, sendo comum nas mãos e nos pés (50).

A sua fisiopatologia diz respeito ao processo inflamatório da articulação, que culmina com a erosão óssea, ocasionando um desalinhamento articular. Concomitantemente à destruição óssea, os músculos e tendões ao redor da articulação tornam-se fracos e disfuncionais. A maioria dos doentes desenvolve anemia e, em alguns, a doença cursa com xeroftalmia. Raramente estes indivíduos apresentam inflamação pulmonar, episclerite, esclerite, vasculite e pericardite (34). A AR é uma doença crónica e deformante, que limita funcionalmente o indivíduo. Sendo assim, e tal como mencionado anteriormente, é uma doença com custos financeiros elevados devido à assistência médica que requer e aos custos relativos às alterações funcionais (34, 50).

O tratamento sintomático básico da AR baseia-se na utilização de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e de corticoides, ou seja, o objetivo é combater a resposta inflamatória

de natureza autoimune que afeta as articulações, tentando reduzir as dores e as deformidades (34, 50). Sendo assim, vários estudos sugerem que a vitamina D poderia ter um papel interessante no controlo da inflamação que ocorre na AR, devido ao papel imunomodulador do calcitriol. A vitamina D tem um papel bem definido no metabolismo do cálcio e dos ossos e, por causa disso, níveis séricos suficientes são considerados um fator protetor contra a osteoporose, quedas e fraturas, condições muito presentes nos doentes que são afetados pela AR, justificando a sua suplementação nos que estão em situação de hipovitaminose (51).

A hipovitaminose D é comum em doentes com AR e evidências apontam que seja mais prevalente do que na população em geral (51-57). Um estudo de coorte realizado por Ranganathan et. al. demonstrou uma associação “in vivo” da hipovitaminose D com uma maior atuação das células Th17, responsáveis pela produção da IL-17, em indivíduos com AR. Esta superprodução de IL-17 está intimamente relacionada com o processo inflamatório base da doença. De entre as pessoas estudadas, 30% apresentavam deficiência de vitamina D (52). Outro estudo de coorte, este de maiores proporções, com um total de 775 pacientes com AR, demonstrou que a deficiência de calcidiol foi encontrada em 40,5% dos doentes estudados (58). Num estudo efetuado por Rossini et. al., estes analisaram 1191 pacientes com AR, dos quais 43% apresentavam hipovitaminose D (53). Um estudo europeu que envolveu 13 países de diferentes latitudes e teve uma amostra de 625 pacientes portadores de AR demonstrou que apenas 6% apresentaram concentrações consideradas normais de calcidiol sérico (>30 ng/ml) (55). Em uma meta-análise, Lin J. et al avaliaram 24 estudos envolvendo um total de 3489 doentes com AR. Os autores observaram que há uma deficiência de vitamina D evidente neste grupo, a qual tem uma relação íntima com a atividade da doença. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar estes dados (56). Indivíduos com doença muito ativa estão expostos a maior risco de desenvolver deficiência da vitamina D, geralmente por serem pessoas mais debilitadas e com menor exposição ao sol. No entanto, Rossini et. al. (53) descreveram que os doentes com artrite reumatóide muito ativa estão sob maior risco de

desenvolver hipovitaminose D, independentemente da exposição ao sol ou da quantificação do índice de massa corporal (IMC) (53, 59) .

A associação entre os níveis de vitamina D e a atividade da artrite reumatóide tem sido amplamente debatida. Diversos estudos (53, 59-67) concluíram que doentes concomitantemente com AR e deficientes de vitamina D apresentam uma percentagem de remissão e de resposta ao tratamento convencional significativamente menor do que o observado naqueles com níveis adequados de calcidiol. Esta evidência leva-nos a pensar que os níveis séricos da vitamina D podem interferir na evolução da doença e na sua resposta ao tratamento e a considerar a administração de vitamina D como tratamento adicional em casos de indivíduos com artrite reumatóide recente. Além disso, os deficientes em vitamina D apresentam pior qualidade de vida e maior debilidade física associada à baixa prática de atividades físicas (60). Em paralelo a esta constatação, existem outros estudos que indicam a não existência de associação entre os níveis séricos de calcidiol e a atividade da doença reumatológica (68-70) .

Um ponto interessante da associação da atuação da vitamina D na evolução da AR é a atividade do VDR. Este recetor intracelular é expresso em linfócitos T, macrófagos, condrócitos e células sinoviais de indivíduos que sofrem de artrite reumatóide, mas não necessariamente na população em geral (71). Gallone et. al verificaram variações significativas nos sítios de ligação do VDR em seis distúrbios, sendo três em doenças autoimunes como a doença inflamatória intestinal, a doença de Crohn e a AR (72) . No entanto, muitos estudos divergem na tentativa de associar o desenvolvimento da artrite reumatóide ao recetor VDR (73-76).

Os estudos diferem significativamente no que se refere à relação dos níveis de vitamina D e o risco de desenvolvimento da AR (69, 73, 77, 78) . Foram testados agonistas VDR em modelos murinos em estado de indução de artrite, os quais demonstraram ser eficientes na prevenção da artrite e na supressão de sua progressão (69). A meta-análise de Song, Bae e Lee (73) incluiu 3 estudos de coorte que envolviam 215.757 participantes, 874 casos de AR e 8 estudos sobre a associação dos níveis de vitamina D plasmáticos e a atividade da AR envolvendo 2.885 casos e 1.084 controlos. Este estudo evidenciou uma

associação significativa entre a administração total de vitamina D e a incidência de AR, sendo que as pessoas do grupo de maior ingestão de vitamina D apresentaram um risco diminuído de 24,2% quando comparadas com o grupo de menor ingestão. No entanto, mais estudos são necessários para estabelecer uma relação fisiopatológica a fim de determinar se a suplementação de vitamina D tem, de fato, efeito benéfico no quadro de artrite reumatóide.

Gopinath e Danda (78) realizaram um estudo randomizado com 110 doentes que foram divididos em grupos controlo e de caso, tendo este grupo recebido terapêutica associada de drogas antirreumáticas modificadoras do curso da doença (DMARD) e 500 UI 1,25 dihidroxivitamina D3 e cálcio, enquanto que o primeiro recebeu apenas terapia de DMARD e cálcio. No fim do terceiro mês de tratamento, o grupo que recebeu suplementação de vitamina D, referiu um alívio adicional da dor de 20% em relação ao que recebeu apenas DMARD e cálcio. A dose usual de vitamina D3 para adultos é de 200 UI/dia. No entanto, algumas fontes já utilizaram doses de 10.000 UI diária e não observaram efeitos adversos relacionados com a alta dose.

2- Objetivos

2.1 Objetivo Primário

Analisar os níveis séricos de vitamina D entre doentes com AR atendidos num serviço privado de Reumatologia em Vitória da Conquista e verificar se os níveis de vitamina D influenciam a atividade da AR, usando o DAS 28 como índice.

2.2 Objetivos Secundários

2.2.1 - Determinar a dosagem de 25 hidroxivitamina D em doentes portadores de AR.

2.2.2 - Determinar a frequência de hipovitaminose D em doentes portadores de AR

.

2.2.3 - Verificar se existe correlação entre o nível de vitamina D e a atividade da doença medida pelo DAS28.

3- Materiais e Métodos

O presente estudo é um estudo observacional transversal retrospectivo com colheita de dados no período decorrido entre 1 de junho de 2016 e 01 de junho de 2017.

3.1. Amostra

Neste estudo foram incluídos 103 indivíduos portadores de AR de ambos os sexos e com idades compreendidas entre os 18 e os 80 anos que foram consultados num serviço privado de Reumatologia de Vitória da Conquista-BA.

Além da idade acima mencionada, os critérios de inclusão foram os seguintes:

- Preencher critérios de classificação do ACR (1987) e/ou ACR/EULAR (2010).
- Ter acompanhamento regular, definido como pelo menos 3 consultas no intervalo de um ano.
- Ter comparecido, pelo menos numa consulta, no período definido para a colheita de dados.
- Ter o registo da dosagem de vitamina D na ficha clínica, pelo menos numa ocasião, no período definido para a colheita dos dados.

Critérios de exclusão:

Síndromes de má absorção intestinal.

Insuficiência hepática.

Insuficiência renal.

Inicialmente foi feita uma pesquisa geral, através do programa eletrónico para atendimento dos doentes, usando os códigos internacionais de doenças (CID) M05.8 e M06.0, referentes à AR com fator reumatóide positivo e negativo, respetivamente. Nesta primeira fase foram selecionados 273 doentes registados na clínica como portadores de AR. Depois, de forma individualizada todos os processos clínicos foram

vistos pela médica investigadora e selecionados de acordo com os critérios de inclusão/exclusão, sendo selecionados 103 indivíduos que foram incluídos no estudo.

3.2. Colheita de dados dos registos clínicos

A cada doente estudado foi atribuído um número, tendo sido registados em tabela os seguintes dados clínicos: idade, sexo, antecedentes pessoais (Hipertensão Arterial sistémica (HAS), Diabetes Mellitus, osteoporose, tabagismo), medicação habitual (corticosteróides, DMARDs, imunobiológicos), idade do diagnóstico, número de anos de evolução da doença, DAS 28, dosagens de VHS, PCR e vitamina D3 (25(OH)D3), constantes nas anotações feitas numa mesma visita do doente à clínica no período pré-determinado.

3.3. Critérios diagnósticos

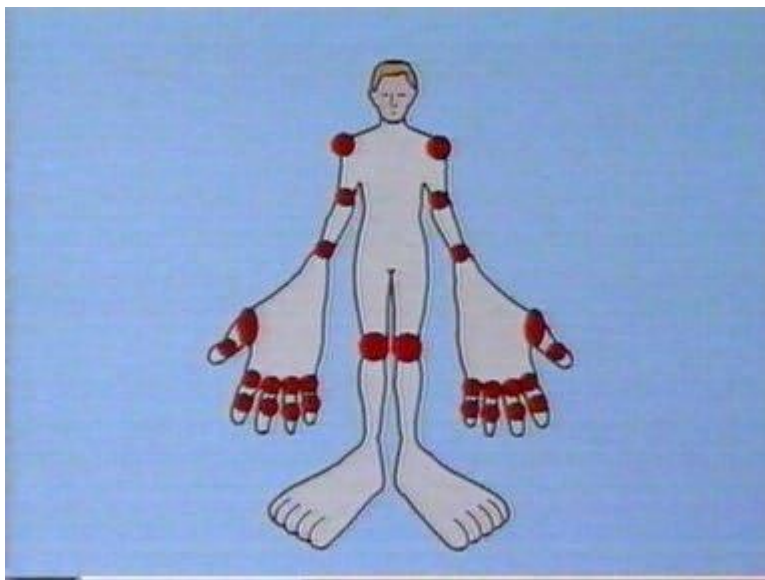
Os indivíduos com AR foram identificados com base nos Critérios diagnósticos ACR 1987 e/ou ACR/EULAR (2010) (Tabelas 1 e 2).

3.4. Disease Activity Score - DAS 28

O DAS28 foi o instrumento de medida de atividade da AR usado no presente estudo. Considera apenas 28 articulações (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalângicas, interfalângicas proximais e joelhos, bilateralmente), contando o número de articulações dolorosas sem ponderar a intensidade da dor. Considera-se que seja dolorosa uma articulação que apresente algum grau de desconforto, não necessariamente dor intensa, quando avaliada por dígito pressão ou pela sua mobilização passiva e tumefacta a articulação que se apresente edemaciada. Após observação do doente com AR, assinalam-se as articulações dolorosas e tumefactas, conforme descrito anteriormente, usando uma figura (Figura 3). No cálculo desse índice consideram-se também os valores de VHS. Esses dados são inseridos numa calculadora digital, disponível online.

<http://www.dasscore.nl/das28/DAScalculators/dasculators.html>

Figura 3 – Representação esquemática para cálculo do DAS28



Fonte: Disponível em <http://www.dasscore.nl/das28/DAScalculators/dasculators.html>.

Acesso em novembro de 2017

3.5. Exames laboratoriais

Os exames laboratoriais, VHS, PCR, Fator Reumatóide, anti CCP e 25(OH)D3 dos indivíduos que integraram o estudo foram igualmente registados.

3.5.1. Vitamina D

Neste estudo, o método usado para a determinação da vitamina D foi o imunoensaio automatizado por quimioluminescência (ARCHITECT 25-OH VITAMIN D- Abbott). Os níveis séricos de 25(OH)D3 calculados por este método têm como limites da normalidade 30 a 100 ng/ml. Indivíduos com valores abaixo de 20 ng/ml são considerados como deficientes em vitamina D e aqueles com valores entre 20-30 ng/ml são classificados como insuficientes. Neste estudo designámos o valor de 30 ng/ml como limite da normalidade.

Como citado anteriormente, existem diversos métodos para aferir os níveis plasmáticos do calcidiol, sendo que a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) associada à espectrometria de massa (MS) são consideradas as técnicas padrão. Porém, o método da cromatografia tem custos elevados e é mais trabalhoso do que os outros métodos, o que limita o seu uso na prática clínica de rotina. O método mais prático e de menor custo para utilização na rotina é o imunoensaio automatizado. No entanto, este último apresenta limitações na sua eficácia, principalmente pela ocorrência de ligações cruzadas com outras moléculas, como o 3-epímero do calcidiol – que pode corresponder até 5% da medida total – e a 24,25(OH)₂D – responsável até 20% da medida total. Por este motivo, devemos considerar estas variações na classificação diagnóstica dos indivíduos (40).

3.6. Análise estatística

O programa estatístico usado foi o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) na versão 20.0 (SPSS Inc, Chicago). Na análise estatística descritiva, as variáveis contínuas foram expressas sob a forma de medidas de tendência central e de dispersão (média, mediana e desvio-padrão (DP)) e as variáveis categóricas em frequências e percentagens. Para as variáveis quantitativas, após a utilização do teste de Shapiro-Wilk para verificar o pressuposto de normalidade dos dados, utilizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney na comparação entre dois grupos. Nos casos em que existiram três grupos, escolheu-se o teste de Kruskal-Wallis. A quantificação da correlação linear entre o DAS28 e as outras variáveis quantitativas foi efetuada através do coeficiente de correlação de Spearman. Uma versão do teste qui-quadrado (χ^2) de independência usou-se na análise das variáveis categóricas. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de $p < 0,05$.

4- Resultados

De entre os 273 doentes portadores dos CID M05.8 e M06.0, 103 foram incluídos no estudo. Cento e setenta doentes foram excluídos da amostra, sendo que 53 foram excluídos por não manterem controlo regular, 105 por não terem registo da dosagem de vitamina D no período definido para o estudo, três tinham insuficiência renal, um o diagnóstico de síndrome de má-absorção e oito mais de 80 anos.

A idade média dos doentes foi de 58,93 anos, sendo 67% do sexo feminino e 33% do sexo masculino. A média de idade na altura do diagnóstico foi de 50,11 anos e a duração média da doença de 8,89 anos, conforme descrito nas tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Idade, idade na altura do diagnóstico da AR e número de anos com a doença

	mínimo	máximo	média	DP
Idade	34	80	58,93	12,01
Idade na altura do diagnóstico da AR	18	76	50,11	14,06
Número de anos com doença	01	38	8,89	8,30

Tabela 7: Género

Género	Masculino	Feminino
	33%	67%

Em relação ao Fator Reumatóide, 17 doentes (16,5%) tinham este resultado negativo e 86 (83,5%) positivo, sendo que em 19 (18,4%) o seu título era baixo e em 67 (65%) elevado. De entre os 103 doentes avaliados, 41 (39,8%) tinham dosagem de ANTI CCP registada nas fichas clínicas, sendo que 35 (34%) apresentavam um título elevado.

Quanto ao índice de atividade da doença, DAS28, a média de seu valor foi 3,08 (1,2-6,7) com um desvio padrão (DP) de 1,27, conforme tabela 8.

Tabela 8: Valores de DAS28

	Mínimo	Máximo	Média	DP
DAS 28	1,2	6,7	3,08	1,27

O valor médio para a dosagem de vitamina D foi de 32,20 ng/ml, variando de 13,5 a 83,2 ng/ml com DP de 10,32, conforme tabela 9.

Tabela 9: Valores de Vitamina D

	Mínimo	Máximo	Média	DP
Dosagem Vit. D (ng/ml)	13,50	83,20	32,20	10,32

Destes doentes, em 60 (58,3%) a dosagem de vitamina D estava acima de 30 ng/ml, 34 (33%) entre 20-30 ng/ml e nove (8,7%) abaixo de 20 ng/ml, conforme tabela 10.

Tabela 10: Número de doentes por valores de vitamina D:

Dosagem Vit.D (ng/ml)	< 20	> 20 e < 30	> 30
Número de doentes	09	34	60

Quando avaliamos os valores de DAS28 baseado nas dosagens de vitamina D, divididas por categorias, <20 ng/ml, >20 e <30 ng/ml e >30 ng/ml, os doentes com Vitamina D <20 apresentam uma média de 4,36. A média dos valores de DAS28 entre os doentes

com Vitamina D >20 e <30 foi de 3,02 e nos que apresentaram Vitamina D ≥30 ng/ml, a média encontrada foi de 2,88. Conforme tabela 11.

Tabela 11: Número de doentes e valores de DAS28 por valores de vitamina D:

Valor de Vit.D	Número de doentes	DAS28 Mínimo	DAS28 Máximo	Média DAS28	DP DAS28
Vit.D <20 ng/ml	9	3,3	6,2	4,36	1,09
Vit.D >20 e <30 ng/ml	34	1,5	6,4	3,02	1,35
Vit.D ≥30 ng/ml	60	1,2	6,7	2,88	1,14

Os valores de VHS variaram de 3-120 mm, com uma média de 32,66 mm e um DP de 24,83, enquanto que os de PCR registados tiveram uma média de 8,33 mg/dl, variando entre 0 e 48 mg/dl, com um DP de 10,67, conforme tabela 12.

Tabela 12: Valores de VHS e PCR

	Mínimo	Máximo	Média	DP
VHS(mm)	3	120	32,66	24,83
PCR mg/dl	0	48	8,33	10,67

Sobre os medicamentos usados pelos doentes do estudo, 51 (49,5%) estavam medicados com prednisona, 44 (42,7%) usavam em dose baixa (definida como menor ou igual a 5 mg por dia), 6 (5,8%) dose média (entre 5-10 mg por dia) e 1 (1%) prednisona em dose elevada (acima de 10 mg/dia) (Tabela 13).

Tabela 13: Número de doentes de acordo com a dose de prednisona

	Não medicado	<5mg/dia	5-10mg/dia	>10mg/dia
Prednisona	52	44	6	1

Em relação à hidroxicloroquina (HCQ), 60 (58,3%) estavam em tratamento e 43 (41,7%) não tinham essa medicação prescrita. A utilização de metotrexato (MTX) foi mencionada por 77 (74,8%) dos doentes, enquanto 26 (25,2%) não usavam esta medicação. Leflunomida (LFN) estava prescrita em 51 (49,5%) e 52 (50,5%) não a usavam. Em relação ao uso de medicamentos imunobiológicos, eram utilizados por 42 (40,8%) dos doentes, sendo que 7 (6,8%) faziam terapêutica com infliximabe, 24 (23,3%) com golimumabe, 9 (8,7%) adalimumabe e 2 (1,9%) rituximabe. Em 61 (59,2%) os imunobiológicos não eram usados (Tabela 14).

Tabela 14: Número de doentes de acordo com os medicamentos prescritos

Medicamentos	Medicado	Não medicado
Prednisona	51	52
Hidroxicloroquina	60	43
Metotrexato	77	26
Leflunomida	51	52
Imunobiológicos	42	61

Quanto às doenças associadas, 53 (51,5%) dos indivíduos com AR apresentaram HAS, 11 (10,7%) diabetes mellitus, 22 (21,4%) um quadro de osteoporose e 3 (2,9%) eram tabagistas (tabela 15).

Tabela 15: Número de doentes de acordo com doenças associadas

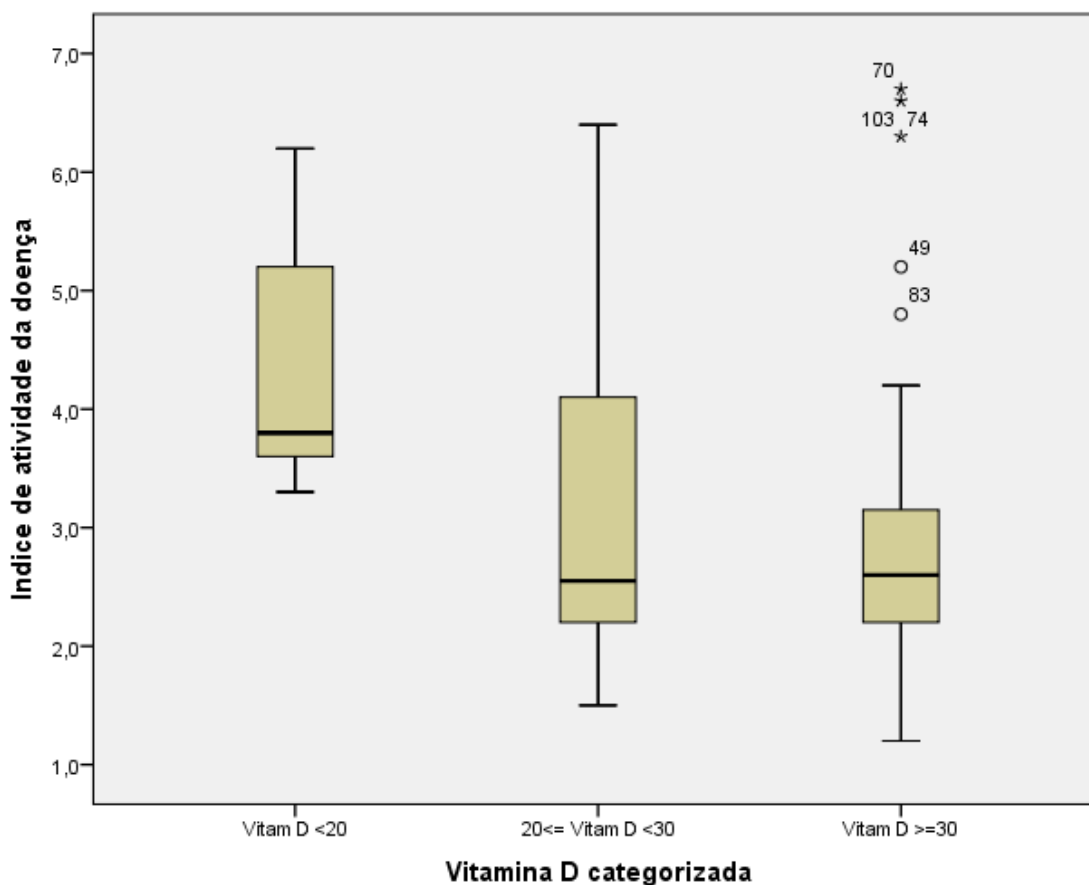
Doença	Número de doentes
HAS	53
Diabetes Mellitus	11
Osteoporose	22
Tabagismo	03

Quando se aplicou o teste de normalidade dos dados, Shapiro-Wilk, para a dosagem de vitamina D, nos doentes hipertensos e não hipertensos, diabéticos e não diabéticos e para os que tinham ou não um diagnóstico de osteoporose, notou-se que os dados de dosagem de Vitamina D não tem distribuição Gaussiana entre esses grupos. Assim, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para verificar se existe diferença na distribuição das dosagens de Vitamina D entre cada um desses dois grupos supracitados.

Quando se aplicou o teste de Mann-Whitney para comparar as dosagens de vitamina D entre hipertensos e não hipertensos, encontrou-se um valor de p igual a 0,263, mostrando que não existe diferença estatística entre esses grupos. O mesmo ocorreu na aplicação do teste entre os diabéticos e não diabéticos, sendo encontrado um valor de p igual a 0,597. Nos doentes com e sem osteoporose, o valor de p encontrado foi de 0,023 ($p < 0,05$), mostrando que existe uma diferença estatisticamente significativa nas dosagens de vitamina D entre os doentes com e sem osteoporose.

Quando aplicamos o teste de normalidade dos dados, Shapiro-Wilk, para a variável Índice de Atividade da Doença (DAS28) nas três categorias de Vitamina D, notou-se que em dois destes grupos o DAS28 não possuía distribuição normal e por isso foi usado o teste de Kruskal-Wallis para se comparar as distribuições do DAS28 nos três níveis da Vitamina D (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição do DAS28 segundo os níveis de Vit D



O teste de Kruskal-Wallis mostrou que existe uma diferença da distribuição do DAS28 em pelo menos um dos níveis de Vitamina D, com valor de p igual a 0,003. Para sabermos em qual dos grupos existe esta diferença, apresentamos abaixo o resultado dos pós-teste de Dunn (Tabela 16). Este pós-teste indica que existe diferença da distribuição do DAS28 entre os doentes com vitamina D >30 e aqueles com vitamina D <20 ($p = 0,001$), assim como na distribuição do DAS28 entre os doentes com Vitamina D <20 e com vitamina D >20 e <30 ($p = 0,003$).

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos níveis de DAS28 entre os doentes com Vitamina D >30 e aqueles com vitamina D >20 e <30 ($p = 0,644$).

Tabela 16: Pós-teste de Dunn

Amostra 1- Amostra2	Estatística de teste	Erro padrão	Estatística de teste padrão	Valor de p
Vit.D >30 - 20< Vit.D <30	2,96	6,40	0,46	0,644
Vit.D >30 - Vit. D <20	36,50	10,67	3,42	0,001
20< Vit.D <30 - Vit. D <20	33,54	11,19	2,30	0,003

Cada linha mostra a média de vitamina D por categoria.

Cada linha testa a hipótese nula de que as distribuições da amostra 1 e da amostra 2 são as mesmas.

Como o DAS28 não possui distribuição normal, ao ser avaliado pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, para avaliar a correlação do DAS28 com as variáveis quantitativas idade, dosagem de vitamina D, idade no diagnóstico da doença, número de anos com AR, dosagem do AntiCCP, VHS e PCR.

Ao aplicarmos os coeficientes de correlação de Spearman, foi encontrada uma correlação estatisticamente significativa entre o DAS28 e a dosagem de vitamina D ($p= 0,007$), a VHS ($p= 0,000$) e a PCR ($p= 0,003$) (Tabela 17).

Tabela 17: Coeficientes de correlação de Spearman

			DAS28
Spearman	Idade	Coeficiente de correlação	-,185
		Valor de p	,062
		N	103
	Dosagem vitamina D	Coeficiente de correlação	-,264
		Valor de p	,007
		N	103
	Idade ao diagnóstico da doença	Coeficiente de correlação	-,192
		Valor de p	,052
		N	103
	Número de anos com a doença	Coeficiente de correlação	,023
		Valor de p	,817
		N	103
	AntiCCP	Coeficiente de correlação	,254
		Valor de p	,109
		N	41
	VHS	Coeficiente de correlação	,376
		Valor de p	,000
		N	103
	PCR	Coeficiente de correlação	,287
		Valor de p	,003
		N	103

5- Discussão

Em relação à idade dos doentes, a média encontrada em nosso estudo (58,9 anos) está em concordância com a média de idades referidas em outros trabalhos, sendo que no trabalho de Rossini a média encontrada foi a mesma (58,9 anos) (53, 55, 60, 79), assim como no que diz respeito ao tempo médio de duração da doença (53, 60). Em relação ao género, o presente estudo incluiu um número maior de indivíduos do sexo masculino (33%), quando comparado a outros estudos semelhantes (53, 60, 79). Neste trabalho 83,5% doentes apresentavam FR positivo e nos que tinham dosagens de anti CCP registadas, 83% tinham este resultado positivo, números semelhantes aos encontrados no estudo multicêntrico europeu (79,7% e 73,3%, respetivamente) (55).

O primeiro objetivo a atingir foi determinar os níveis séricos de 25 hidroxivitamina D em um grupo de doentes portadores de AR, tendo em conta os vários estudos já realizados por diferentes autores e que referem o interesse deste marcador nas doenças auto-imunes, como é o caso da AR (53, 55-57, 60). O método usado para a determinação da vitamina D neste estudo foi o imunoensaio automatizado por quimioluminescência (ARCHITECT 25-OH VITAMIN D- Abbott), que é mais prático e de menor custo, uma vez que um teste com estas características poderá mais facilmente ser utilizado em regiões de fracos recursos. No entanto, este teste apresenta limitações na sua eficácia, principalmente pela ocorrência de ligações cruzadas com outras moléculas, como o 3-epímero do calcidiol – que pode corresponder até 5% da medida total – e a 24,25(OH)₂D – responsável por até 20% da medida total. Por este motivo, estas variações devem ser consideradas na classificação diagnóstica dos indivíduos (40). Os níveis séricos de 25(OH)D calculados por este método têm como limites da normalidade 30 a 100 ng/ml. No presente trabalho encontramos uma média de vitamina D igual a 32,20 ng/ml e 58% dos doentes com valores de vitamina D acima de 30 ng/ml, sendo que apenas 8,7% dos doentes apresentaram níveis considerados insuficientes em relação à dosagem de 25 (OH)D e 33% dosagens séricas deficientes, de acordo com as definições aceitas na literatura. Em relação à deficiência, os valores encontrados estão de acordo com os dados da literatura, que variam de 3,6 até 49% (80-83).

Uma justificação para os valores de vitamina D bem acima do encontrado em outros trabalhos (53, 55, 60, 79) é o facto dos indivíduos que participaram no estudo residirem no Nordeste Brasileiro, em uma baixa latitude (próximo de 14 graus) e com uma alta taxa de exposição solar (84). O Brasil é um país de dimensões continentais e a maior parte do território nacional localiza-se entre o Equador e o Trópico de Capricórnio e, com a inclinação maior da Terra em relação ao Sol para o sul, o Brasil é um dos países do mundo com maior extensão de território em proximidade com o Sol. Em decorrência destes fatores geográficos e pela cultura de exposição solar, o brasileiro é um dos povos com maior exposição anual ao Sol (85).

Os níveis séricos de vitamina D pouco dependem da ingestão de alimentos ricos na mesma, mas principalmente da sua síntese cutânea, sendo vários os fatores que podem influenciar os mesmos (86-88).

A síntese cutânea de vitamina D está dependente do nível de exposição solar e sendo assim está inerente a vários fatores, como latitude da zona geográfica, estação do ano, hora do dia, extensão da superfície corporal, espessura e pigmentação da pele exposta, duração da exposição, uso de protetores solares, idade e obesidade (89, 90). Todos esses fatores podem justificar as prevalências tão distintas encontradas em estudos diferentes. Existem diferentes teorias que tentam explicar a relação entre obesidade e deficiência de vitamina D (91). Primeiro, devido à baixa aceitação social, postula-se que indivíduos obesos reduzam sua exposição à luz solar, realizando menos atividades ao ar livre e / ou usando roupas que cubram mais o corpo, o que limita a exposição ao sol e, consequentemente, a síntese cutânea da vitamina D. Entretanto, em um estudo baseado na coorte de Framingham, avaliando a associação entre obesidade e vitamina D, foi relatado que, após ajustes para a prática de atividades físicas ao ar livre, essa teoria era insuficiente para explicar a relação entre obesidade e deficiência de vitamina D (92). Assim, diferentes níveis de exposição ao sol parecem ser uma explicação improvável para a relação entre a deficiência de vitamina D e a obesidade. Alternativamente, tem sido sugerido que o excesso de gordura corporal retém os metabólitos da vitamina D e que o colecalciferol produzido através da pele ou adquirido pela dieta é parcialmente

sequestrado pela gordura corporal antes de ser transportado para o fígado para a primeira hidroxilação (89). Além disso, variações no nível de ativação da enzima 1- α -hidroxilase nas células adiposas de indivíduos obesos explicaria o maior uso local de 25 (OH) D. De acordo com essa hipótese, variações nas reservas séricas de 25 (OH) D e vitamina D podem estar diretamente relacionadas à quantidade de gordura corporal subcutânea (92). Wortsman *et al.* relataram que após a exposição à luz solar, o aumento na concentração sérica de 25 (OH) D foi 53% menor entre os indivíduos obesos do que entre voluntários eutróficos, independente da quantidade de precursor cutâneo de vitamina D que estava presente (89). Por outro lado, alguns dados experimentais sugeriram que a deficiência de vitamina D pode favorecer maior adiposidade promovendo aumento dos níveis de hormona da paratiroide e maior influxo de cálcio nos adipócitos, aumentando assim a lipogênese (93). O trabalho de Martini *et al.* sugere que a 1.25 (OH) D inibe a lipogênese por meio de ações moduladas por recetores dependentes de vitamina D. Assim, a depleção de vitamina D pode levar à diferenciação excessiva dos pré-adipócitos aos adipócitos (94).

A média de idade da população estudada é de 58,93 +/- 12,01, o que está de acordo com os resultados aqui apresentados em relação aos níveis de vitamina D. Nestas idades provavelmente haverá alguma diminuição da sua síntese cutânea, uma vez que alguns estudos revelam que esta vitamina aos 70 anos é somente cerca de 25% da do jovem adulto (95, 96). Os medicamentos usados pelos doentes do estudo estão de acordo com as recomendações do consenso da Sociedade Brasileira de Reumatologia que, por sua vez, segue as recomendações da ACR e EULAR (50). Os corticosteroides em doses baixas são usados por metade dos doentes, sendo que o efeito mais conhecido e esperado dos corticoides na AR é a melhoria do processo inflamatório e da dor. Contudo, atualmente há evidências que apontam para que sejam participantes na alteração do curso da doença, em associação com as DMARD's. A maioria dos estudos sobre o uso de corticoides no tratamento da AR sugere a utilização da prednisona ou prednisolona em doses baixas (≤ 15 mg/dia) (97, 98). As DMARD's devem ser indicadas a todos os doentes a partir da definição do diagnóstico de AR (99). Os principais medicamentos

orais utilizados no tratamento da AR no Brasil são metotrexato (MTX), leflunomida (LFN) e hidroxicloroquina (HCQ), que coincidem com as medicações prescritas aos doentes deste trabalho. O MTX, usado por 75% dos doentes deste estudo, é atualmente considerado o fármaco oral padrão no tratamento da AR, tendo capacidade de reduzir sinais e sintomas de atividade da doença e de melhorar o estado funcional dos doentes. Ele também reduz a progressão das lesões radiográficas (100) . O MTX é um agente imunomodulador cuja ação consiste na inibição da síntese de DNA, ácido ribonucleico (RNA), timidinato e proteínas. Os efeitos anti-inflamatórios do MTX na AR parecem estar relacionados, pelo menos em parte, com a modulação do metabolismo da adenosina e com os efeitos possíveis nas vias do TNF (101) .

A LFN, ministrada a 49,5% dos doentes deste estudo, é um agente imunomodulador com atividade antiproliferativa que inibe a enzima diidroorotato desidrogenase, envolvida na síntese da pirimidina (102). A LFN melhora a atividade da doença e a qualidade de vida e reduz a progressão radiográfica.

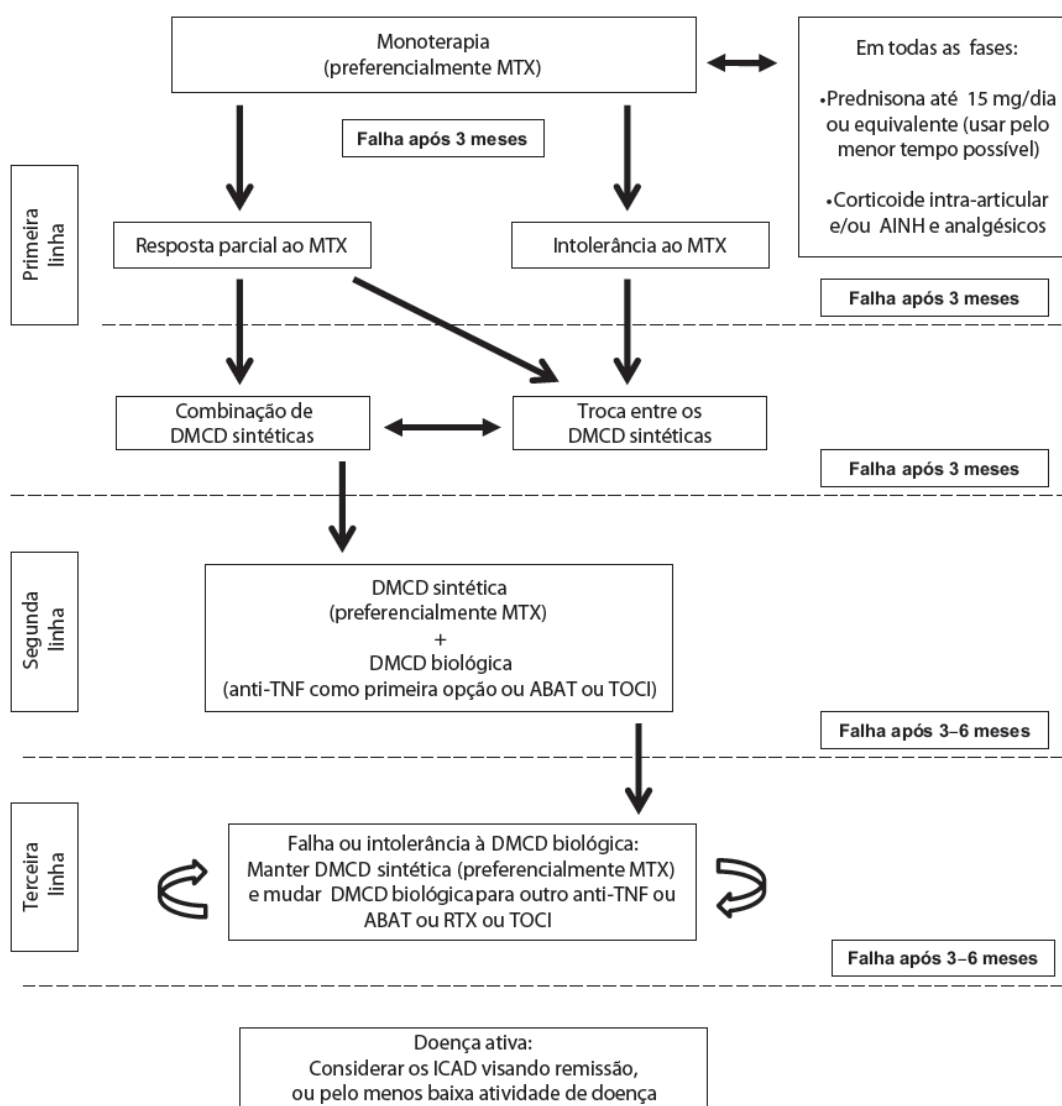
A HCQ, prescrita a 58% dos doentes no grupo estudado, é um medicamento do grupo dos antimaláricos que são utilizados no tratamento da AR há mais de 50 anos e que são seguros e eficazes, sobretudo para formas iniciais e leves. O seu mecanismo de ação ainda é pouco conhecido, mas parece envolver múltiplos fatores: atividade anti-inflamatória, através da estabilização das membranas lisossomais, inibição de enzimas lisossômicas e da quimiotaxia e fagocitose de polimorfonucleares e interferência na produção de prostaglandinas (103). A HCQ é eficaz em comparação com o placebo, reduzindo os parâmetros clínicos e laboratoriais analisados, embora isoladamente não tenha alterado a progressão radiográfica como ocorre com o MTX e a LFN (103). Apesar de ainda serem muito usados no Brasil, geralmente em associação a outras DMARD's, os antimaláricos atualmente são considerados medicamentos menos potentes, estando indicados em casos iniciais de AR, com baixo potencial erosivo.

No Brasil, a terapia imunobiológica na AR está indicada para os doentes que persistem com atividade da doença moderada a alta (conforme ICAD), apesar do tratamento com pelo menos dois dos esquemas propostos como primeira linha (Figura 4).

Os medicamentos anti-TNF são a primeira opção no Brasil, de entre os biológicos, após falha dos esquemas com DMARD's. Somente em situações excepcionais, o medicamento biológico pode ser indicado, como após falha do primeiro esquema oral, naqueles indivíduos com vários fatores de mau prognóstico, incluindo doença com atividade muito intensa, elevado número de articulações inflamadas, FR e/ou anti-CCP em altos títulos e ocorrência precoce de erosões radiográficas. O uso de medicamentos biológicos como primeira linha para o tratamento da AR não está indicado no Brasil, pois não há evidências de custo-efetividade dessa indicação em neste país (50). No estudo que aqui se apresenta, em 42% dos doentes estão em regime de medicação imunobiológica.

A Figura 4 sintetiza o fluxograma de tratamento medicamentoso para a AR no Brasil, proposto pela Comissão de Artrite Reumatoide da Sociedade Brasileira de Reumatologia.

Figura 4 – Fluxograma de tratamento medicamentoso da AR no Brasil



ABAT: abatacept; AINH: anti-inflamatórios não hormonais; DMCD: drogas modificadoras do curso da doença (DMARDs); RTX: rituximabe; TOCI: tocilizumabe.

Fonte: adaptado de Rev Bras Reumatol. 2013 Feb;53(1):4-23 (50).

Entre as doenças concomitantes encontradas nos doentes do estudo, a Hipertensão Arterial, a Diabetes Mellitus tipo 2 e a Osteoporose têm relação com o sistema endócrino da vitamina D (95, 104). De acordo com publicações anteriores, a vitamina D reduz o

risco de várias patologias, incluindo doenças auto-imunes como a Esclerose Múltipla e a Diabetes Mellitus tipo 1 e também de outras como a Artrite Reumatóide, Diabetes Mellitus tipo 2, Hipertensão Arterial e Acidente Vascular Cerebral (105, 106).

Apesar da relação entre a vitamina D e a Diabetes Mellitus tipo 1 ter sido extensamente documentada, a relação com a Diabetes Mellitus tipo 2 também não é excluída. Alguns investigadores têm documentado que indivíduos com esta doença crónica parecem também apresentar deficiência da vitamina D, pressuposto este cada vez com maior aceitabilidade e credibilidade (107, 108). Na globalidade, a Diabetes Mellitus é um problema de saúde cujo número de portadores cresce a cada ano em virtude, sobretudo, do envelhecimento populacional associado ao estilo de vida urbano sedentário. Dados da Sociedade Brasileira de Diabetes estimam que existem 387 milhões de indivíduos que sofrem da doença mundialmente (109).

Os componentes envolvidos na fisiopatogénese da Diabetes Mellitus são a resistência insulínica e a secreção de insulina diminuídas, além do estado inflamatório basal. A comunidade científica chama a atenção para a possibilidade de associação entre a hipovitaminose D e a diabetes, visto que o VDR e a enzima α -hidroxilase estão presentes nas células beta-pancreáticas, demonstrando possível efeito local (108, 110). Além disso, parece que a vitamina D pode ter ação indireta por facilitar a absorção intestinal do cálcio, essencial para a homeostase insulínica (111). Níveis insuficientes de vitamina D estão, também, relacionados com concentrações elevadas de hormona da paratiróide, regulador da sensibilidade insulínica (112).

A concentração de vitamina D tem sido inversamente relacionada com o nível de hemoglobina glicosilada (HbA1c), independentemente da taxa de gordura do indivíduo (112). Recentemente, um estudo controlo randomizado indicou que a redução da HbA1c após suplementação de vitamina D foi insignificante (113). Um coorte com a duração de 10 anos inferiu que a suplementação de vitamina D resulta num risco diminuído de diabetes mellitus gestacional (111). Nunez Lopez YO. et al. sugerem que a suplementação de vitamina D atenua a evolução do quadro em adultos pré-diabéticos (114). Outro estudo

de coorte apontou que níveis elevados de colecalciferol desde a infância até à vida adulta estão associados a menor risco de desenvolver Diabetes Mellitus tipo 2 (115).

No entanto e apesar dos resultados demonstrados em estudos observacionais, ainda não foi possível apontar uma relação benéfica direta entre níveis ótimos de vitamina D e a redução dos riscos de Diabetes Mellitus. Estudos com um número maior de indivíduos no grupo controlo são extremamente necessários e de maior importância (108, 116-118). Existem evidências sólidas em modelos animais e humanos de que o défice de vitamina D é prejudicial para as células beta do pâncreas e conduz a intolerância à glicose oral e à diabetes mellitus tipo 2. Se a vitamina D altera o metabolismo da insulina, então vários mecanismos podem ser responsáveis. Evidência de que a vitamina D estimula a secreção pancreática de insulina diretamente, exercendo ação sobre os VDR localizados nas células beta das ilhotas do pâncreas tem sido descrita (119). Outro estudo também encontrou que o nível de calcidiol está inversamente correlacionado com a concentração plasmática de glicose e diretamente associado ao aumento da sensibilidade insulínica em indivíduos saudáveis (120). Diversos trabalhos demonstram uma ligação entre alguns polimorfismos de VDR e a intolerância à glicose oral e a Diabetes Mellitus tipo 2, apesar de existirem diferenças nestas duas populações (119).

Nos indivíduos do presente estudo verificou-se a concomitância de AR com a Diabetes Mellitus tipo 2 em onze casos (10,3% do grupo), sendo importante ressaltar que a medicação dos doentes com AR inclui com frequência glucocorticóides que contribuem também para a insulino-resistência. Apesar de existirem estudos que correlacionam a redução dos níveis de vitamina D com a ocorrência de Diabetes Mellitus tipo 2, no presente estudo não houve diferença entre as dosagens de vitamina D entre os indivíduos com AR diabéticos e não diabéticos. Seriam necessários estudos desenhados para este fim, comparando a dosagem de vitamina D em doentes com AR, diabéticos e não diabéticos para melhor avaliar esta correlação.

A tensão arterial também é uma das doenças que parece ser afetada pela vitamina D, apesar dos estudos serem controversos (104, 110, 121-123). A hipertensão arterial sistémica é uma doença crónica com grande impacto global, geralmente associada a

outros fatores de risco cardiovasculares como dislipidemia, obesidade abdominal, intolerância à glicose e Diabetes Mellitus (124). No Brasil, dados da Sociedade Brasileira de Cardiologia indicam que existem 36 milhões de adultos com HAS (125).

A HAS está fisiopatologicamente associada a alguns mecanismos, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA), arteriosclerose e resposta inflamatória. A supressão do sistema RAA pela estimulação dos VDR foi demonstrada a partir de experiências *in vitro* e modelos animais (126). A vitamina D elevada diminui a expressão do gene da renina, diminuindo, por conseguinte, a alça RAA. A vitamina D também tem sido associada à vasodilatação por aumentar a expressão de óxido nítrico e à modulação da resposta imune, por atuar em recetores toll like (127).

Estudos observacionais demonstram uma relação inversamente proporcional entre os baixos níveis de vitamina D e valores de tensão arterial elevados em indivíduos portadores de hipertensão, o que sugere que a hipovitaminose D possa ser um fator de risco reversível da doença (110, 126-129). Uma meta-análise de 283.537 participantes indicou que para cada aumento de 10ng/ml sérico de vitamina D, há redução do risco de hipertensão futura em 12% (130).

A vitamina D tem um efeito regulador negativo no sistema RAA e é sugerido uma relação inversa entre os seus níveis e o risco de doença cardiovascular, pelo seu efeito a nível do controlo da HAS. Além disso, a vitamina D também tem propriedades antiproliferativas, antiangiogénicas e antioxidantes e poderá proteger de doenças crónicas degenerativas como a doença cardiovascular (110). No entanto, estudos clínicos randomizados têm resultados diferentes, que podem resultar da heterogeneidade das amostras populacionais em estudo, das doses e da posologia empregadas da vitamina D (110, 112, 116, 126-134). Sendo assim, até ao momento, não existem fundamentos científicos suficientes para que indivíduos hipertensos sejam tratados com vitamina D e seus análogos (127). No grupo deste estudo, encontramos 53 indivíduos com HAS (51,5% do grupo), percentagem semelhante à encontrada no trabalho de Raczkiewicz *et al* (60). No presente estudo não houve diferença nos níveis de vitamina D entre os doentes com AR hipertensos e não hipertensos e, apesar de vários trabalhos sugerirem a relação entre deficiência de vitamina

D com Hipertensão Arterial e com AR separadamente, não existem trabalhos que tivessem avaliado os níveis de vitamina D em doentes com AR, que também sejam hipertensos.

Em relação à Osteoporose, encontramos no nosso estudo 21,4% dos doentes com essa condição, sendo essa percentagem semelhante à encontrada em outros estudos (53, 60). A osteoporose é uma condição caracterizada pela diminuição da densidade óssea associada à deterioração da microestrutura, a partir de um desequilíbrio entre formação e degradação óssea, marcada pela ação de osteoclastos. A sua incidência aumenta substancialmente com o envelhecimento populacional e está intrinsecamente relacionada com um risco mais elevado de fraturas (135).

A vitamina D é um agente importante capaz de elevar a concentração de cálcio sérico devido à sua ação clássica, uma vez que estimula a absorção de cálcio e fosfato pela mucosa intestinal, em estado hipocalcémico (136). Alguns estudos indicam que a deficiência de vitamina D está associada com a redução da densidade óssea e a um risco mais elevado de fraturas. Por este motivo, a vitamina D tem sido utilizada como terapêutica relevante contra a osteoporose (137-140). A análise estatística mostra uma diferença significativa ($p = 0,023$) entre os níveis de vitamina D quando se comparam doentes com AR com e sem osteoporose. No entanto, não se pode fazer uma correlação direta entre estas variáveis, uma vez que existem outros fatores relevantes na génese da osteoporose, além da deficiência de vitamina D, como a idade e o uso de corticosteroides, que não foram analisados de forma isolada.

Os corticosteroides prescritos na AR podem reduzir a absorção de cálcio e prejudicar o metabolismo da vitamina D, contribuindo para uma perda de massa óssea e desenvolvimento de osteoporose. O papel da vitamina D na homeostasia mineral e óssea é o mais conhecido e difundido. Esta vitamina atua localmente no duodeno, promovendo uma maior absorção de cálcio pelo intestino a partir da síntese proteica de elementos como a calbindina-D9k (CaBP-9k) e o canal apical epitelial TRPV6 (40). O calcitriol, quando em concentração elevada, modula a ação da PTH e por esse motivo está

relacionado com uma massa óssea melhor (35). A hipovitaminose D pode levar a hiperparatiroidismo secundário, com elevação nos níveis de PTH, devido à absorção diminuída de cálcio e fósforo no intestino e consequente osteoporose (42).

O segundo objetivo deste trabalho foi avaliar a existência de relação entre os níveis séricos de 25(OH)D e a atividade da AR. A média do DAS 28 nos doentes com AR foi de 3,08 +/-1,27, um valor que define atividade baixa a moderada da doença. Esta média encontra-se abaixo da descrita em outros trabalhos, o que está em concordância com o fato de que neste trabalho (53, 60) se encontrou uma percentagem muito menor de doentes com insuficiência (8,7%) de vitamina D, quando comparado com outros trabalhos publicados, cujas frequências de insuficiência variam de 52-76% (53, 55, 60, 79).

Da avaliação da média de níveis de vitamina D nestes indivíduos e da sua correlação com o índice de atividade de doença DAS 28 verificou-se que no estudo que aqui se apresenta existe uma correlação negativa estatisticamente significativa entre o DAS 28 e a média de 25(OH)D ($p < 0,007$). Recentemente, a maior ingestão de vitamina D foi associada a um menor risco de AR. Por seu lado, níveis baixos de vitamina foram associados a uma maior atividade de doença e muitos estudos efetuados em adultos de ambos os sexos têm documentado essa relação inversa entre a vitamina D e as doenças auto-imunes (24, 31, 44, 46, 48, 53, 56, 57). No trabalho de revisão e meta-análise de Lin J et al, um total de 24 trabalhos envolvendo 3489 indivíduos com AR foram selecionados para análise. Os doentes com AR apresentaram níveis mais baixos de vitamina D do que os controlos saudáveis (MD: 16,52 ng/ ml, intervalos de confiança de 95% [IC]: 18,85 a 14,19 ng / ml). Uma relação negativa foi notada entre o nível sérico de 25OHD e o índice de atividade da doença versus pontuação da atividade de doença em 28 articulações (DAS28): $r = 0,13$, IC de 95% 0,16 a 0,09; 25OHD versus proteína C reativa: $r = 0,12$, IC 95% 0,23 a 0,00. Além disso, a análise do subgrupo estratificado pela latitude produziu uma correlação negativa relativamente forte entre 25OHD e DAS28 em áreas de baixa latitude. Esta relação inversa também pareceu mais significativa nos países em desenvolvimento do que nos países desenvolvidos. Desta forma, os autores concluíram

que os indivíduos com AR apresentaram valores mais baixos de vitamina D do que os controlos saudáveis e que houve associação negativa entre a vitamina D e a atividade da AR. No entanto, são necessários estudos mais rigorosamente controlados para validar estes resultados e conclusões (56).

A par destes trabalhos e apesar de no presente estudo os doentes estarem sob medicação com corticoides, DMARD's e terapêuticas biológicas, a correlação entre o índice de atividade DAS 28 e a 25(OH)D foi significativa a favor de uma ação imunomoduladora da vitamina D. A análise de um número maior de doentes poderia originar resultados mais fidedignos.

Não existe consenso sobre qual o nível de vitamina D adequado para um bom estado de saúde (25, 27). A discussão e conclusão de diversos especialistas baseia-se no facto de que os níveis seriam adequados acima de 30 ng/ml para evitar um hiperparatiroidismo secundário (40, 41), mas ainda é desconhecido qual o nível adequado a uma boa manutenção da força muscular, prevenção de quedas e redução da atividade inflamatória na AR (49, 63, 141). Porém parece ser consensual que para haver um efeito imunomodulador na AR os níveis de 25(OH)D devem ser superiores a 30 ng/ml, não estando ainda definido qual o nível óptimo. No entanto, sabe-se que para se obterem níveis de 25(OH)D superiores a 30 ng/ml será necessária uma ingestão diária de 800 – 1000 UI de vitamina D (40) .

Apesar do pequeno tamanho da amostra limitar a extrapolação dos resultados, este trabalho analisa uma população específica, que vive em uma área de baixa latitude. Por isso tem exposição solar elevada e os resultados reforçam a ideia de que a síntese cutânea da vitamina D tem um papel relevante na sua dosagem sérica, bem como os níveis de vitamina D tem correlação negativa com a atividade da doença no doente com AR. Neste trabalho, não se quantificou a ingestão diária de vitamina D, nem o tempo médio de exposição solar entre os doentes, o que poderia dar informações relevantes para se analisar melhor os resultados obtidos. Outro ponto que deve ser destacado são as limitações da técnica usada para a dosagem da vitamina D, que torna viável a realização do exame em áreas menos favorecidas, mas que exige cautela na interpretação dos

resultados. Por fim, como se tratou de um estudo sem intervenção, não podemos concluir que os pacientes com AR beneficiariam do uso da vitamina D.

6- Conclusão

Como conclusão e tendo em consideração os objetivos do estudo que foram verificar a prevalência de hipovitaminose D em um grupo de doentes portadores de AR e correlacionar os níveis de 25 (OH) D com a atividade da doença usando o DAS 28 como índice e os seus resultados pode deduzir-se que:

No que respeita ao primeiro objetivo encontramos uma prevalência da deficiência de vitamina D menor do que a encontrada em outros trabalhos da literatura, o que poderia ser justificado pelo fato de os doentes residirem no nordeste brasileiro, área em que existe uma exposição solar elevada por parte dos seus habitantes durante quase todo o ano. Para uma confirmação desse pressuposto seria necessário um outro estudo que quantificasse a exposição solar dos indivíduos envolvidos e que comparasse estes resultados com os de indivíduos a viverem em outras áreas do Brasil com características sociodemográficas semelhantes aos incluídos neste trabalho de investigação. Quanto ao segundo objetivo, verificámos que a vitamina D se correlaciona numa forma inversamente proporcional com o DAS28 como índice de atividade de doença na artrite reumatoide, o que confirma os resultados descritos em vários estudos anteriores. Esta relação inversa sugere um papel imunomodulador desta vitamina, apesar da ausência de dados de intervenção a apoiar esta premissa. Finalmente, seria muito importante determinar o nível inferior do intervalo dos níveis de vitamina D que poderiam originar uma homeostase imunológica. Para esta observação ter lugar seria também necessário efetuar outros estudos, englobando doentes que vivem nesta latitude, numa população maior e num período mais prolongado, nos quais se avaliasse a evolução da atividade da AR perante o suplemento alimentar de vitamina D ou uma intervenção farmacológica com a mesma. Neste momento, a necessidade de determinação laboratorial ou o rastreio dos valores de vitamina D para todos os indivíduos com AR e o melhor método laboratorial a ser usado são ainda discutíveis. No entanto, poder-se-á especular se para os grupos de risco esta não seria uma medida que preveniria complicações futuras, em conjunto com as medidas de reforço e

suplementação em doses adequadas a cada déficit. No caso de suplementação farmacológica são também discutíveis as doses adequadas de vitamina D.

Este estudo foi o primeiro a ser executado numa população do nordeste brasileiro com AR no que diz respeito à análise não só dos níveis de vitamina D, mas também da sua relação com a atividade da doença, medida pelo DAS28, pelo que os seus resultados contribuíram para se conhecer as especificidades desta população no que diz respeito aos parâmetros estudados.

7-BIBLIOGRAFIA

1. Abdel-Nasser AM, Rasker JJ, Valkenburg HA. Epidemiological and clinical aspects relating to the variability of rheumatoid arthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 1997;27(2):123-40.
2. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmunity reviews*. 2005;4(3):130-6.
3. Cardiel MH, Latin American Rheumatology Associations of the Pan-American League of Associations for R, Grupo Latinoamericano de Estudio de Artritis R. First Latin American position paper on the pharmacological treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45 Suppl 2:ii7-ii22.
4. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S265-72.
5. Cardiel MH, Pons-Estel BA, Sacnun MP, Wojdyla D, Saurit V, Marcos JC, et al. Treatment of early rheumatoid arthritis in a multinational inception cohort of Latin American patients: the GLADAR experience. *J Clin Rheumatol*. 2012;18(7):327-35.
6. Delgado-Vega AM, Martin J, Granados J, Anaya JM. [Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis: what to expect from Latin America?]. *Biomedica*. 2006;26(4):562-84.
7. Schoels M, Wong J, Scott DL, Zink A, Richards P, Landewe R, et al. Economic aspects of treatment options in rheumatoid arthritis: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(6):995-1003.
8. de Azevedo AB, Ferraz MB, Ciconelli RM. Indirect costs of rheumatoid arthritis in Brazil. *Value Health*. 2008;11(5):869-77.
9. Salmon JE, Roman MJ. Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Am J Med*. 2008;121(10 Suppl 1):S3-8.
10. Wallberg-Jonsson S, Ohman ML, Dahlqvist SR. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with seropositive rheumatoid arthritis in Northern Sweden. *The Journal of rheumatology*. 1997;24(3):445-51.
11. Myasoedova E, Gabriel SE. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: a step forward. *Curr Opin Rheumatol*. 2010;22(3):342-7.
12. Pieringer H, Studnicka-Benke A. What is causing my arthritis, doctor? A glimpse beyond the usual suspects in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *QJM*. 2013;106(3):219-28.
13. de Vries RR, van der Woude D, Houwing JJ, Toes RE. Genetics of ACPA-positive rheumatoid arthritis: the beginning of the end? *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70 Suppl 1:i51-4.
14. Feitsma AL, Worthington J, van der Helm-van Mil AH, Plant D, Thomson W, Ursum J, et al. Protective effect of noninherited maternal HLA-DR antigens on rheumatoid arthritis development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(50):19966-70.

15. Klein K, Ospelt C, Gay S. Epigenetic contributions in the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(6):227.
16. Sokolove J, Bromberg R, Deane KD, Lahey LJ, Derber LA, Chandra PE, et al. Autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2012;7(5):e35296.
17. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1988;31(3):315-24.
18. van Aken J, van Dongen H, le Cessie S, Allaart CF, Breedveld FC, Huizinga TW. Comparison of long term outcome of patients with rheumatoid arthritis presenting with undifferentiated arthritis or with rheumatoid arthritis: an observational cohort study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2006;65(1):20-5.
19. Emery P. The Roche Rheumatology Prize Lecture. The optimal management of early rheumatoid disease: the key to preventing disability. *Br J Rheumatol*. 1994;33(8):765-8.
20. Nell VP, Machold KP, Eberl G, Stamm TA, Uffmann M, Smolen JS. Benefit of very early referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43(7):906-14.
21. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(9):2569-81.
22. Fransen J, van Riel PL. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Clinical and experimental rheumatology*. 2005;23(5 Suppl 39):S93-9.
23. Aletaha D, Smolen J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2005;23(5 Suppl 39):S100-8.
24. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357(3):266-81.
25. Taylor CL, Patterson KY, Roseland JM, Wise SA, Merkel JM, Pehrsson PR, et al. Including food 25-hydroxyvitamin D in intake estimates may reduce the discrepancy between dietary and serum measures of vitamin D status. *J Nutr*. 2014;144(5):654-9.
26. Mai S, Walker GE, Vietti R, Cattaldo S, Mele C, Priano L, et al. Acute Vitamin D(3) Supplementation in Severe Obesity: Evaluation of Multimeric Adiponectin. *Nutrients*. 2017;9(5).
27. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(2):491S-9S.
28. Lhamo Y, Chugh PK, Gautam SR, Tripathi CD. Epidemic of Vitamin D Deficiency and Its Management: Awareness among Indian Medical Undergraduates. *J Environ Public Health*. 2017;2017:2517207.
29. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(4):1080S-6S.
30. Bikle DD. Vitamin D and the skin: Physiology and pathophysiology. *Rev Endocr Metab Disord*. 2012;13(1):3-19.
31. Badenhoop K, Kahles H, Penna-Martinez M. Vitamin D, immune tolerance, and prevention of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep*. 2012;12(6):635-42.
32. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM. 1alpha-Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol*. 2000;25(2):141-8.

33. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol.* 2014;21(3):319-29.
34. Donahue KE, Jonas DE, Hansen RA, Roubey R, Jonas B, Lux LJ, et al. Drug Therapy for Rheumatoid Arthritis in Adults: An Update. AHRQ Comparative Effectiveness Reviews. Rockville (MD)2012.
35. Fleet JC. The role of vitamin D in the endocrinology controlling calcium homeostasis. *Mol Cell Endocrinol.* 2017.
36. Bikle DD, Murphy EW, Rasmussen H. The ionic control of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ synthesis in isolated chick renal mitochondria. The role of calcium as influenced by inorganic phosphate and hydrogen-ion. *J Clin Invest.* 1975;55(2):299-304.
37. Bikle DD, Rasmussen H. The ionic control of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ production in isolated chick renal tubules. *J Clin Invest.* 1975;55(2):292-8.
38. Kim MS, Fujiki R, Kitagawa H, Kato S. 1 α ,25(OH)₂D₃-induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. *Mol Cell Endocrinol.* 2007;265-266:168-73.
39. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001;22(4):477-501.
40. Maeda SS, Borba VZ, Camargo MB, Silva DM, Borges JL, Bandeira F, et al. Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabology (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(5):411-33.
41. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-30.
42. Pourjabbar A, Dwivedi G, Haddad H. The role of vitamin D in chronic heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 2013;28(2):216-22.
43. Pilz S, Marz W, Wellnitz B, Seelhorst U, Fahrleitner-Pammer A, Dimai HP, et al. Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):3927-35.
44. Pandolfi F, Franza L, Mandolini C, Conti P. Immune Modulation by Vitamin D: Special Emphasis on Its Role in Prevention and Treatment of Cancer. *Clin Ther.* 2017.
45. Ke W, Sun T, Zhang Y, He L, Wu Q, Liu J, et al. 25-Hydroxyvitamin D serum level in Hashimoto's thyroiditis, but not Graves' disease is relatively deficient. *Endocr J.* 2017.
46. Garcia-Carrasco M, Jimenez-Herrera EA, Galvez-Romero JL, de Lara LV, Mendoza-Pinto C, Etchegaray-Morales I, et al. Vitamin D and Sjogren syndrome. *Autoimmunity reviews.* 2017;16(6):587-93.
47. Wei R, Christakos S. Mechanisms Underlying the Regulation of Innate and Adaptive Immunity by Vitamin D. *Nutrients.* 2015;7(10):8251-60.
48. Chirumbolo S, Bjorklund G, Sboarina A, Vella A. The Role of Vitamin D in the Immune System as a Pro-Survival Molecule. *Clin Ther.* 2017.
49. Bragazzi NL, Watad A, Neumann SG, Simon M, Brown SB, Abu Much A, et al. Vitamin D and rheumatoid arthritis: an ongoing mystery. *Curr Opin Rheumatol.* 2017.

50. da Mota LM, Cruz BA, Brenol CV, Pereira IA, Rezende-Fronza LS, Bertolo MB, et al. 2012 Brazilian Society of Rheumatology Consensus for the treatment of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52(2):152-74.
51. Zhao S, Otieno F, Akpan A, Moots RJ. Complementary and Alternative Medicine Use in Rheumatoid Arthritis: Considerations for the Pharmacological Management of Elderly Patients. *Drugs Aging*. 2017;34(4):255-64.
52. Ranganathan P, Khalatbari S, Yalavarthi S, Marder W, Brook R, Kaplan MJ. Vitamin D deficiency, interleukin 17, and vascular function in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2013;40(9):1529-34.
53. Rossini M, Maddali Bongi S, La Montagna G, Minisola G, Malavolta N, Bernini L, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(6):R216.
54. Herly M, Stengaard-Pedersen K, Horslev-Petersen K, Hetland ML, Ostergaard M, Christensen R, et al. Association between baseline vitamin D metabolite levels and long-term cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis from the CIMESTRA trial: protocol for a cohort study with patient-record evaluated outcomes. *BMJ Open*. 2017;7(4):e014816.
55. Vojinovic J, Tincani A, Sulli A, Soldano S, Andreoli L, Dall'Ara F, et al. European multicentre pilot survey to assess vitamin D status in rheumatoid arthritis patients and early development of a new Patient Reported Outcome questionnaire (D-PRO). *Autoimmunity reviews*. 2017;16(5):548-54.
56. Lin J, Liu J, Davies ML, Chen W. Serum Vitamin D Level and Rheumatoid Arthritis Disease Activity: Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146351.
57. Gheita TA, Sayed S, Gheita HA, Kenawy SA. Vitamin D status in rheumatoid arthritis patients: relation to clinical manifestations, disease activity, quality of life and fibromyalgia syndrome. *Int J Rheum Dis*. 2016;19(3):294-9.
58. Urruticoechea-Arana A, Martin-Martinez MA, Castaneda S, Piedra CA, Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, et al. Vitamin D deficiency in chronic inflammatory rheumatic diseases: results of the cardiovascular in rheumatology [CARMA] study. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:211.
59. Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM, et al. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):4119-23.
60. Raczkiewicz A, Kisiel B, Kulig M, Tlustochowicz W. Vitamin D status and its association with quality of life, physical activity, and disease activity in rheumatoid arthritis patients. *J Clin Rheumatol*. 2015;21(3):126-30.
61. Furuya T, Hosoi T, Tanaka E, Nakajima A, Taniguchi A, Momohara S, et al. Prevalence of and factors associated with vitamin D deficiency in 4,793 Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2013;32(7):1081-7.
62. Haga HJ, Schmedes A, Naderi Y, Moreno AM, Peen E. Severe deficiency of 25-hydroxyvitamin D(3) (25-OH-D(3)) is associated with high disease activity of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2013;32(5):629-33.
63. Attar SM. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis. Prevalence and association with disease activity in Western Saudi Arabia. *Saudi Med J*. 2012;33(5):520-5.
64. Sabbagh Z, Markland J, Vatanparast H. Vitamin D status is associated with disease activity among rheumatology outpatients. *Nutrients*. 2013;5(7):2268-75.

65. Haque UJ, Bartlett SJ. Relationships among vitamin D, disease activity, pain and disability in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2010;28(5):745-7.
66. Turhanoglu AD, Guler H, Yonden Z, Aslan F, Mansuroglu A, Ozer C. The relationship between vitamin D and disease activity and functional health status in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2011;31(7):911-4.
67. Zakeri Z, Sandoughi M, Mashhadi MA, Raeesi V, Shahbakhsh S. Serum vitamin D level and disease activity in patients with recent onset rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2016;19(4):343-7.
68. Baker JF, Baker DG, Toedter G, Shults J, Von Feldt JM, Leonard MB. Associations between vitamin D, disease activity, and clinical response to therapy in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2012;30(5):658-64.
69. Braun-Moscovici Y, Toledano K, Markovits D, Rozin A, Nahir AM, Balbir-Gurman A. Vitamin D level: is it related to disease activity in inflammatory joint disease? *Rheumatol Int*. 2011;31(4):493-9.
70. Craig SM, Yu F, Curtis JR, Alarcon GS, Conn DL, Jonas B, et al. Vitamin D status and its associations with disease activity and severity in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2010;37(2):275-81.
71. Hansen KE, Bartels CM, Gangnon RE, Jones AN, Gogineni J. An evaluation of high-dose vitamin D for rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol*. 2014;20(2):112-4.
72. Gallone G, Haerty W, Disanto G, Ramagopalan SV, Ponting CP, Berlanga-Taylor AJ. Identification of genetic variants affecting vitamin D receptor binding and associations with autoimmune disease. *Hum Mol Genet*. 2017;26(11):2164-76.
73. Song GG, Bae SC, Lee YH. Association between vitamin D intake and the risk of rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Clin Rheumatol*. 2012;31(12):1733-9.
74. Lopez-Mejias R, Genre F, Remuzgo-Martinez S, Robledo G, Llorca J, Corrales A, et al. Vitamin D receptor GATG haplotype association with atherosclerotic disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2016;245:139-42.
75. Saad MN, Mabrouk MS, Eldeib AM, Shaker OG. Genetic Case-Control Study for Eight Polymorphisms Associated with Rheumatoid Arthritis. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131960.
76. Tizaoui K, Hamzaoui K. Association between VDR polymorphisms and rheumatoid arthritis disease: Systematic review and updated meta-analysis of case-control studies. *Immunobiology*. 2015;220(6):807-16.
77. Wen H, Baker JF. Vitamin D, immunoregulation, and rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol*. 2011;17(2):102-7.
78. Gopinath K, Danda D. Supplementation of 1,25 dihydroxy vitamin D3 in patients with treatment naive early rheumatoid arthritis: a randomised controlled trial. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(4):332-9.
79. Azzeh FS, Kensara OA. Vitamin D Is a Good Marker for Disease Activity of Rheumatoid Arthritis Disease. *Dis Markers*. 2015;2015:260725.
80. Kerr GS, Sabahi I, Richards JS, Caplan L, Cannon GW, Reimold A, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(1):53-9.
81. Cecchetti S, Tatar Z, Galan P, Pereira B, Lambert C, Mouterde G, et al. Prevalence of vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis and association with disease activity and cardiovascular risk factors: data from the COMEDRA study. *Clinical and experimental rheumatology*. 2016;34(6):984-90.

82. Grazio S, Naglic DB, Anic B, Grubisic F, Bobek D, Bakula M, et al. Vitamin D serum level, disease activity and functional ability in different rheumatic patients. *Am J Med Sci.* 2015;349(1):46-9.
83. Zheng ZH, Gao CC, Wu ZZ, Liu SY, Li TF, Gao GM, et al. High prevalence of hypovitaminosis D of patients with autoimmune rheumatic diseases in China. *Am J Clin Exp Immunol.* 2016;5(3):48-54.
84. Jelinek GA, Marck CH, Weiland TJ, Pereira N, van der Meer DM, Hadgkiss EJ. Latitude, sun exposure and vitamin D supplementation: associations with quality of life and disease outcomes in a large international cohort of people with multiple sclerosis. *BMC Neurol.* 2015;15:132.
85. Schalka S, Steiner D, Ravelli FN, Steiner T, Terena AC, Marcon CR, et al. Brazilian consensus on photoprotection. *An Bras Dermatol.* 2014;89(6 Suppl 1):1-74.
86. Jungert A, Spinneker A, Nagel A, Neuhauser-Berthold M. Dietary intake and main food sources of vitamin D as a function of age, sex, vitamin D status, body composition, and income in an elderly German cohort. *Food Nutr Res.* 2014;58.
87. Correia A, Azevedo Mdo S, Gondim F, Bandeira F. Ethnic aspects of vitamin D deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(5):540-4.
88. McDonnell SL, French CB, Heaney RP. Quantifying the non-food sources of basal vitamin D input. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144 Pt A:146-8.
89. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(3):690-3.
90. Grigalavicius M, Moan J, Dahlback A, Juzeniene A. Daily, seasonal, and latitudinal variations in solar ultraviolet A and B radiation in relation to vitamin D production and risk for skin cancer. *Int J Dermatol.* 2016;55(1):e23-8.
91. Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AM, Santos CA, Santos DB. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2015;16(4):341-9.
92. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, et al. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes.* 2010;59(1):242-8.
93. Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev.* 2008;66(1):40-6.
94. Martini LA, Wood RJ. Vitamin D status and the metabolic syndrome. *Nutr Rev.* 2006;64(11):479-86.
95. Hill TR, Aspray TJ. The role of vitamin D in maintaining bone health in older people. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2017;9(4):89-95.
96. Meehan M, Penckofer S. The Role of Vitamin D in the Aging Adult. *J Aging Gerontol.* 2014;2(2):60-71.
97. van Everdingen AA, Jacobs JW, Siewertsz Van Reesema DR, Bijlsma JW. Low-dose prednisone therapy for patients with early active rheumatoid arthritis: clinical efficacy, disease-modifying properties, and side effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med.* 2002;136(1):1-12.
98. Smolen JS, Landewe R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Annals of the rheumatic diseases.* 2017;76(6):960-77.
99. Furst DE, Pangan AL, Harrold LR, Chang H, Reed G, Kremer JM, et al. Greater likelihood of remission in rheumatoid arthritis patients treated earlier in the disease

course: results from the Consortium of Rheumatology Researchers of North America registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(6):856-64.

100. Brown PM, Pratt AG, Isaacs JD. Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers. *Nature reviews Rheumatology*. 2016;12(12):731-42.

101. Cronstein B. How does methotrexate suppress inflammation? *Clinical and experimental rheumatology*. 2010;28(5 Suppl 61):S21-3.

102. Rozman B. Clinical pharmacokinetics of leflunomide. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(6):421-30.

103. A randomized trial of hydroxychloroquine in early rheumatoid arthritis: the HERA Study. *Am J Med*. 1995;98(2):156-68.

104. Al Mheid I, Quyyumi AA. Vitamin D and Cardiovascular Disease: Controversy Unresolved. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(1):89-100.

105. Vanherwegen AS, Gysemans C, Mathieu C. Regulation of Immune Function by Vitamin D and Its Use in Diseases of Immunity. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2017;46(4):1061-94.

106. Di Somma C, Scarano E, Barrea L, Zhukouskaya VV, Savastano S, Mele C, et al. Vitamin D and Neurological Diseases: An Endocrine View. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11).

107. Buhary BM, Almohareb O, Aljohani N, Alrajhi S, Elkaissi S, Sherbeeni S, et al. Association of Glycosylated Hemoglobin Levels With Vitamin D Status. *J Clin Med Res*. 2017;9(12):1013-8.

108. Issa CM. Vitamin D and Type 2 Diabetes Mellitus. *Adv Exp Med Biol*. 2017;996:193-205.

109. L'Heveder R, Nolan T. International Diabetes Federation. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;101(3):349-51.

110. Skaaby T, Thuesen BH, Linneberg A. Vitamin D, Cardiovascular Disease and Risk Factors. *Adv Exp Med Biol*. 2017;996:221-30.

111. Bao W, Song Y, Bertrand KA, Tobias DK, Olsen SF, Chavarro JE, et al. Prepregnancy habitual intake of vitamin D from diet and supplements in relation to risk of gestational diabetes mellitus: A prospective cohort study. *J Diabetes*. 2017.

112. Majeed F. Low levels of Vitamin D an emerging risk for cardiovascular diseases: A review. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017;11(5):71-6.

113. Randhawa FA, Mustafa S, Khan DM, Hamid S. Effect of Vitamin D supplementation on reduction in levels of HbA1 in patients recently diagnosed with type 2 Diabetes Mellitus having asymptomatic Vitamin D deficiency. *Pak J Med Sci*. 2017;33(4):881-5.

114. Nunez Lopez YO, Pittas AG, Pratley RE, Seyhan AA. Circulating levels of miR-7, miR-152 and miR-192 respond to vitamin D supplementation in adults with prediabetes and correlate with improvements in glycemic control. *J Nutr Biochem*. 2017;49:117-22.

115. Wu F, Juonala M, Pitkanen N, Julia A, Lehtimäki T, Sabin MA, et al. Both youth and long-term vitamin D status is associated with risk of type 2 diabetes mellitus in adulthood: a cohort study. *Ann Med*. 2018;50(1):74-82.

116. Rejnmark L, Bislev LS, Cashman KD, Eiríksdóttir G, Gaksch M, Grubler M, et al. Non-skeletal health effects of vitamin D supplementation: A systematic review on findings from meta-analyses summarizing trial data. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180512.

117. Thorsen SU, Pipper CB, Johannesen J, Mortensen HB, Pociot F, Svensson J. '25-Hydroxyvitamin D, Autoantigenic and Total Antibody Concentrations: Results from a

Danish Case-control Study of Newly Diagnosed Patients with Childhood Type 1 Diabetes and their Healthy Siblings'. *Scand J Immunol*. 2018;87(1):46-53.

118. Deda L, Yeshayahu Y, Sud S, Cuerden M, Cherney DZ, Sochett EB, et al. Improvements in peripheral vascular function with vitamin D treatment in deficient adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2017.

119. Neelankal John A, Iqbal Z, Colley S, Morahan G, Makishima M, Jiang FX. Vitamin D receptor-targeted treatment to prevent pathological dedifferentiation of pancreatic beta cells under hyperglycaemic stress. *Diabetes Metab*. 2017.

120. Santos RKF, Brandao-Lima PN, Tete R, Freire ARS, Pires LV. Vitamin D ratio and glycemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2017.

121. Akgul F, Sercelik A, Cetin H, Erten T. Association of parathyroid hormone and vitamin D with untreated hypertension: Is it different in white-coat or sustained hypertension? *PLoS One*. 2017;12(11):e0188669.

122. Baretic M, Matovinovic M, Vukic T, Ranilovic D. Vitamin D: missing link between hypertension and muscle mass. *J Hum Hypertens*. 2017.

123. Mirhosseini N, Vatanparast H, Kimball SM. The Association between Serum 25(OH)D Status and Blood Pressure in Participants of a Community-Based Program Taking Vitamin D Supplements. *Nutrients*. 2017;9(11).

124. Brook RD, Rajagopalan S. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Soc Hypertens*. 2018.

125. Malachias MVB, Barbosa ECD, Martim JF, Rosito GBA, Toledo JY, Passarelli OJ. 7th Brazilian Guideline of Arterial Hypertension: Chapter 14 - Hypertensive Crisis. *Arq Bras Cardiol*. 2016;107(3 Suppl 3):79-83.

126. Carrara D, Bruno RM, Bacca A, Taddei S, Duranti E, Ghiadoni L, et al. Cholecalciferol treatment downregulates renin-angiotensin system and improves endothelial function in essential hypertensive patients with hypovitaminosis D. *J Hypertens*. 2016;34(11):2199-205.

127. Jeong HY, Park KM, Lee MJ, Yang DH, Kim SH, Lee SY. Vitamin D and Hypertension. *Electrolyte Blood Press*. 2017;15(1):1-11.

128. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, et al. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med*. 2010;152(5):307-14.

129. Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, Wolk A. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2011;29(4):636-45.

130. Kunutsor SK, Apekey TA, Steur M. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(3):205-21.

131. Wu L, Sun D. Effects of calcium plus vitamin D supplementation on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hum Hypertens*. 2017;31(9):547-54.

132. Beveridge LA, Struthers AD, Khan F, Jorde R, Scragg R, Macdonald HM, et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-analysis Incorporating Individual Patient Data. *JAMA Intern Med*. 2015;175(5):745-54.

133. Forman JP, Scott JB, Ng K, Drake BF, Suarez EG, Hayden DL, et al. Effect of vitamin D supplementation on blood pressure in blacks. *Hypertension*. 2013;61(4):779-85.

134. Zittermann A. The Biphasic Effect of Vitamin D on the Musculoskeletal and Cardiovascular System. *Int J Endocrinol*. 2017;2017:3206240.
135. Dikker O, Bekpinar S, Ozdemirler G, Uysal M, Vardar M, Atar S, et al. Evaluation of the Relation Between Omentin-1 and Vitamin D in Postmenopausal Women With or Without Osteoporosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017.
136. Yoshida T, Stern PH. How vitamin D works on bone. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;41(3):557-69.
137. Schacht E, Dukas L, Richy F. Combined therapies in osteoporosis: bisphosphonates and vitamin D-hormone analogs. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2007;7(2):174-84.
138. Peppone LJ, Hebl S, Purnell JQ, Reid ME, Rosier RN, Mustian KM, et al. The efficacy of calcitriol therapy in the management of bone loss and fractures: a qualitative review. *Osteoporos Int*. 2010;21(7):1133-49.
139. Lips P, van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):585-91.
140. Liao RX, Yu M, Jiang Y, Xia W. Management of osteoporosis with calcitriol in elderly Chinese patients: a systematic review. *Clin Interv Aging*. 2014;9:515-26.
141. Haga HJ. Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2013;9(7):591-3.